细胞的分子生物学

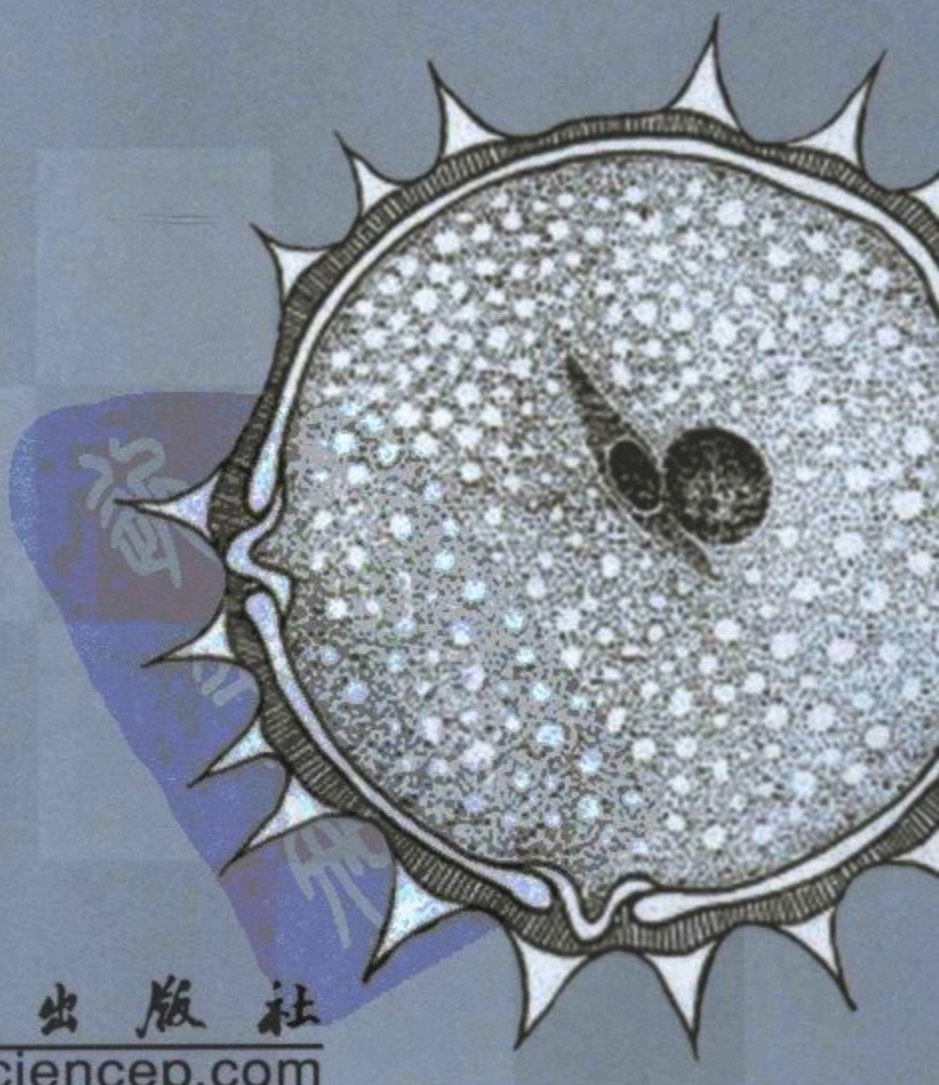
原书第四版

MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL

（下册）

BRUCE ALBERTS 等著

张新跃 钱万强 等译



科学出版社
www.sciencep.com

(Q-1726.0101)

细胞的分子生物学

原书第四版

MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL

高教出版中心 农林与生命科学分社
联系电话：010-64030233
http://www.sciencep.com
e-mail：bio@mail.sciencep.com

销售分类建议：生命科学/细胞生物学

ISBN 978-7-03-017214-3

9 787030 172143 >

全套定价：168.00 元(含光盘)上 下册

国外生命科学优秀教材译丛

Molecular Biology of The Cell
细胞的分子生物学

(原书第四版　下册)

〔美〕B. Alberts 等　著

张新跃　钱万强 等　译

科学出版社

北京

图字：01-2003-7128

Molecular biology of the cell/Bruce Alberts... [et al.]. —4th ed.

ISBN 0-8153-3218-1

© 2002 by Bruce Alberts et al.

All rights reserved. No part of the publication may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means—electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise—without the prior written permission of the copyright holder.

Authorized translation from english language edition published by Garland Science, an imprint of Taylor & Francis Books, Inc.

本书封面贴有 Taylor & Francis 集团防伪标签，未贴防伪标签属未获授权的非法行为。

图书在版编目(CIP)数据

细胞的分子生物学/（下）（美）艾伯茨（Alberts，B.）等著；张新跃等译. —北京：科学出版社，2008

（国外生命科学优秀教材译丛）

ISBN 978-7-03-017214-3

Ⅰ. 细… Ⅱ. ①艾…②张… Ⅲ. ①细胞生物学-教材②分子生物学-教材 Ⅳ. ①Q2②Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 045784 号

责任编辑：周 辉 彭克里 席 慧/责任校对：张 琪

责任印制：张克忠/封面设计：耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码：100717

http://www.sciencep.com

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 8 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

2008 年 8 月第一次印刷 印张：103 3/4

印数：1—4 000 字数：2 430 000

定价：168.00 元（含上下册，光盘）

（如有印装质量问题，我社负责调换（双青））

译 者 名 单

主译： 张新跃　钱万强　舒　畅　张远涛

审校： 张新跃

翻译人员名单（按汉语拼音顺序排名）：

董　娜　韩　冬　何善平　鲁　洁　卢　路　钱万强

舒　畅　武　晔　杨勇飞　张　辰　张丹丹　张晓明

张新跃　张　旭　张远涛

译 者 的 话

在 2005 年接到科学出版社委托我们翻译生命科学领域的权威教材——细胞的分子生物学（*Molecular Biology of The Cell*）一书的任务时，确实有些犹豫：因为工作量浩大，难度不小，要对图书翻译质量负责，时间又很紧张。经过一番激烈的思想斗争之后，再加上盛情难却，我们最终接收了这一艰巨的任务。随后，我们组织了一批年轻的生命科学才俊，并根据各自的擅长领域和兴趣，分配了翻译任务，由此开始了漫长的翻译和校对过程。

细胞的分子生物学是生命科学领域非常重要的一门基础学科。Bruce Alberts 等主编的 *Molecular Biology of The Cell* 一书是全世界公认的一部非常优秀的教材。科学出版社引进这一教材并将其翻译成中文版，确实是明智之举，但愿该书的出版有助于推动我国生命科学的教学和科研。因为译著只是译者对原著的理解，这与译者的翻译和学识水平有关，因此译文很难完全忠实于原文，有时甚至还有错译和误译之处，尽管我们在翻译和校对过程中竭力避免出现此类现象。

参与本书翻译工作的译者分工如下：张新跃（前言、致谢、致读者、词汇表、第 11 章、第 23 章至第 25 章）、钱万强（第 1 章）、何善平（第 2 章和第 15 章）、卢路（第 3 章）、张旭（第 4 章至第 7 章）、张丹丹和鲁洁（第 8 章）、舒畅（第 9 章和第 10 章）、武晔（第 12 章和第 22 章）、董娜（第 13 章和第 14 章）、张辰（第 16 章）、张晓明（第 17 章）、韩冬（第 18 章）、张远涛（第 19 章和第 20 章）、杨勇飞（第 21 章）。

由于译者的翻译水平和学识水平所限，错译和误译在所难免，敬请读者在阅读过程中不吝赐教。

译者

2008 年 3 月 31 日于美国马里兰

使 用 说 明

因本书为黑白印制，考虑到方便读者使用，特将全书所有图片放入所附光盘中。书中所有译文中关于颜色的描述可参照光盘使用。

目　　录

第Ⅰ部分　细胞导论

1　细胞和基因组 …… 3

地球上细胞的共同特征 …… 3

所有的细胞都以同样的线性化学密码（DNA）形式储存遗传信息 …… 3

细胞通过依照模板的聚合作用复制遗传信息 …… 4

所有的细胞都将其部分遗传信息转录成共同的中间体（RNA） …… 5

所有细胞都将蛋白质用作催化剂 …… 7

所有细胞都以相同的方式将 RNA 翻译成蛋白质 …… 8

相应于一种蛋白质的遗传信息片段就是一个基因 …… 9

生命需要自由能 …… 10

所有的细胞都是有着相同分子建造材料的生化工厂 …… 11

细胞外被覆一层细胞膜，营养物质和废弃物必须通过细胞膜进出细胞 …… 12

细胞的生存仅仅需要不到 500 个基因 …… 12

小结 …… 14

基因组的多样性及生命树 …… 14

细胞可由多种自由能源提供能量 …… 14

一些细胞可以为其他细胞固定氮及二氧化碳 …… 16

原核细胞间的生化多样性是最为广泛的 …… 16

生命树有三个基本分支：细菌、古细菌和真核生物 …… 18

一些基因演化迅速，另一些则十分保守 …… 19

大多数细菌和真细菌含有 1000～4000 个基因 …… 20

新基因产生于先前存在的基因 …… 21

基因复制引起单个细胞内相关基因家族的出现 …… 21

基因可以在两个物种之间相互转移，这种现象在实验室和自然界都可以发生 …… 23

物种中基因信息的水平交换是由性引起的 …… 25

基因的功能常能根据其序列而推测 …… 25

生命树上三个基本分支间有 200 多个基因家族相同 …… 26

突变揭示基因的功能 …… 27

分子生物学家将焦点对准了大肠杆菌 …… 27

小结 …… 28

真核生物的遗传信息 …… 29

真核生物起源于捕食生物 …… 29

真核细胞起源于共生体 …… 31

真核生物有着杂和的基因组 …… 33

真核生物的基因组非常庞大 …… 33

真核基因组中有着丰富的调控 DNA …… 34

基因组决定多细胞发育的进程 …… 35

许多真核细胞以单细胞的形式存在，即原生生物 …… 36

酵母是最小的真核模式生物 …… 36

机体中所有基因的表达水平都同时受到监控 …… 38
拟南芥——300 000 多种植物的模式物种 …… 39
动物细胞的代表物种：线虫、果蝇、小鼠、人 …… 40
果蝇的研究为脊椎动物发育学提供了钥匙 …… 40
脊椎动物基因组是重复复制的产物 …… 42
基因冗余对于遗传学家来说是个大问题，但却为进化中的物种提供了机会 …… 43
小鼠是哺乳动物的模式生物 …… 44
人类可以报道自身的特性 …… 45
精确来说我们所有人都是不同的 …… 45
小结 …… 46
2 细胞的化学和生物合成 …… 48
细胞的化学组成 …… 48
细胞是由几种原子构成的 …… 48
最外层电子决定原子的作用方式 …… 51
电子的获得和丢失形成离子键 …… 52
共价键是通过共用电子对形成的 …… 53
存在几种不同类型的共价键 …… 54
专题 2-1 生物分子中常出现的化学键和化学基团 …… 56
原子的行为常常表明它的半径似乎是固定的 …… 58
专题 2-2 水及其对生物分子行为的影响 …… 59
水是细胞中含量最丰富的物质 …… 61
某些极性分子在水中形成酸和碱 …… 61
4 种非共价相互作用帮助细胞内分子结合 …… 62
细胞是由碳化合物构成 …… 64
细胞含有 4 大类主要家族的有机小分子 …… 64
专题 2-3 结合大分子的主要类型的弱非共价键 …… 65
糖类物质为细胞提供能量来源，也是多糖的亚单位 …… 67
专题 2-4 细胞内常见糖的一些类型的概述 …… 69
脂肪酸是细胞膜的组成物质 …… 71
氨基酸是蛋白质的亚单位 …… 72
专题 2-5 脂肪酸和其他的脂类 …… 73
核苷酸是 DNA 和 RNA 的亚单位 …… 77
专题 2-6 核苷酸的概括 …… 79
拥有显著特征的大分子在细胞化学中占据主要地位 …… 81
非共价键不仅决定了大分子的精细形状，而且决定了它与其他分子的结合 …… 82
小结 …… 83
催化作用和细胞利用能量 …… 84
细胞代谢是由酶组织的 …… 84
细胞释放的热能使得生物有序性成为可能 …… 86
专题 2-7 自由能和生物反应 …… 88
光合生物利用阳光合成有机分子 …… 91
细胞通过氧化有机分子获取能量 …… 91
氧化与还原涉及电子转移 …… 93
酶降低了阻遏化学反应的障碍 …… 94
酶是怎样找到底物的——迅速扩散极其重要 …… 95

自由能变化决定反应能否发生 …… 98
反应物浓度影响 ΔG …… 98
对于连续反应，ΔG^0 值是可加和的 …… 100
活化的载体分子对于生物合成必不可少 …… 102
活化载体的生成与能量上有利的反应偶联 …… 102
ATP 是最广泛适用的活化载体分子 …… 103
储存于 ATP 中的能量通常用于两个分子的接合 …… 103
NADH 和 NADPH 是重要的电子载体 …… 105
细胞内还有许多其他的活化载体分子 …… 107
生物聚合物的合成需要输入能量 …… 108
小结 …… 111
细胞怎样从食物中获取能量 …… 112
食物分子分三个阶段分解产生 ATP …… 113
糖酵解是生成 ATP 的中心途径 …… 115
发酵使得在无氧条件下能够生成 ATP …… 115
专题 2-8　糖酵解途径中 10 个步骤的详细内容 …… 117
糖酵解过程证实了酶是如何将氧化放能与能量储存偶联起来的 …… 119
糖和脂肪都在线粒体分解为乙酰 CoA …… 122
柠檬酸循环使乙酰 CoA 氧化成 CO_2，生成 NADH …… 123
电子转移推动细胞内大多数 ATP 的合成 …… 125
专题 2-9　完整的三羧酸循环 …… 127
有机体使用特殊的仓库储存食物分子 …… 129
氨基酸和核酸参与了氮循环 …… 132
许多生物合成途径起始于糖酵解作用或柠檬酸循环 …… 132
代谢受到组织和调节 …… 133
小结 …… 135
3　蛋白质 …… 138
蛋白质的形状和结构 …… 138
蛋白质的形状特异性决定于其氨基酸序列 …… 138
专题 3-1　蛋白质中的 20 种氨基酸 …… 141
蛋白质折叠为能量最低的构象 …… 144
α 螺旋和 β 折叠是常见的折叠模式 …… 145
专题 3-2　显示了 4 种不同的描述 SH2 结构域（真核细胞中有重要功能）的方式 …… 147
结构域是蛋白结构的一个基本单位 …… 149
可能的多肽链中只有少数是有用的 …… 149
蛋白质可以形成有限的折叠模式 …… 151
同源序列搜索可以鉴定亲缘关系 …… 152
计算机技术可以将氨基酸序列归类为已知的蛋白质折叠模式 …… 153
一些被称为模块的蛋白质结构域，形成了很多不同蛋白质的一部分 …… 154
人类基因组编码一套复杂的蛋白质，很多仍然是未知 …… 155
大的蛋白质通常包含不止一条多肽链 …… 156
一些蛋白质形成长的螺旋状纤维 …… 157
一个蛋白质分子可以形成长的、纤维状结构 …… 159
共价交联稳定胞外蛋白 …… 161
蛋白质分子通常作为大的结构分子的亚基 …… 161

细胞内的很多结构是自组装的 …… 163
复杂生物结构的形成需要辅助因子的帮助 …… 165
小结 …… 166
蛋白质的功能 …… 167
所有的蛋白质都可以结合其他分子 …… 167
蛋白质构象的细节决定了其化学性质 …… 168
蛋白质家族成员序列比对可以发现重要的配体结合位点 …… 169
蛋白质通过多种类型的接触面相互结合 …… 170
抗体的结合位点是高度可变的 …… 170
结合能力由平衡常数来衡量 …… 171
酶是高效性和高度专一性的催化剂 …… 172
底物的结合是酶促反应的第一步 …… 174
专题 3-3　用来研究酶的一些方法 …… 175
酶通过选择性的稳定转换状态加速反应 …… 177
酶可以同时产生酸催化和碱催化作用 …… 177
溶菌酶揭示了酶是怎样发挥作用的 …… 177
与小分子的高亲和性赋予了蛋白质额外的功能 …… 181
多酶复合物帮助增加细胞代谢速率 …… 182
酶的催化活性可以被调节 …… 183
别构酶有两个或多个结合位点相互作用 …… 184
两个配体如果其结合位点是偶联的，将会相互影响各自的结合性 …… 184
对称的蛋白质分子的组装产生协同别构转换 …… 186
原子水平上了解天冬氨酸转氨甲酰酶的别构转换 …… 187
磷酸化会导致蛋白质的很多变化 …… 188
真核细胞中有一大类蛋白激酶和蛋白磷酸（酯）酶 …… 188
Cdk 和 Src 蛋白激酶的调控显示了一个蛋白质是如何作为一个微芯片起作用的 …… 191
蛋白质结合和水解 GTP 是普遍存在的细胞调节因子 …… 192
调控蛋白通过决定 GTP 或者 GDP 结合来控制 GTP 结合蛋白的活性 …… 193
大蛋白质的运动来自于小蛋白质 …… 193
动力蛋白负责细胞中的大运动 …… 196
膜结合转运蛋白利用能量将分子输送过膜 …… 198
蛋白质通常形成巨大的复合体，以蛋白质机器的形式发挥功能 …… 199
细胞功能的基础是复杂的蛋白质相互作用网络 …… 199
小结 …… 201

第 II 部分　基本遗传机制

4　DNA 与染色体 …… 205
DNA 的结构和功能 …… 207
DNA 分子由两条互补的核苷酸链组成 …… 207
DNA 的结构提供了一种遗传机制 …… 210
真核生物中，DNA 围在细胞核内 …… 212
小结 …… 213
染色体 DNA 及其在染色质纤维中的包装 …… 213
真核生物 DNA 包装成一套染色体 …… 213

染色体含有长串的基因 …… 214
人类基因组的核苷酸序列揭示了基因在人体内是如何排列的 …… 217
相关生物 DNA 之间的比较揭示 DNA 序列中存在保守区域和非保守的区域 …… 220
染色体存在于细胞生命过程中的不同阶段 …… 221
每个形成线性染色体的 DNA 分子都必须含有一个着丝粒、两个端粒和复制起点 …… 222
染色体中的 DNA 分子高度凝聚 …… 224
核小体是真核生物染色体结构的基本单位 …… 224
核小体核心颗粒的结构揭示了 DNA 是如何包装的 …… 226
核小体在 DNA 上的位置由 DNA 柔性和其他 DNA 结合蛋白质决定 …… 227
核小体通常一起包装成一条致密的染色质纤维 …… 229
ATP 驱动的染色质重建装置改变了核小体结构 …… 231
组蛋白尾的共价修饰可以对染色质产生深远的影响 …… 232
小结 …… 235
染色体的总体结构 …… 235
灯刷染色体含有解凝聚的染色质环 …… 235
果蝇多线染色体排列成交替的带和间带 …… 237
在多线染色体中，带和间带都含有基因 …… 239
单个多线染色体的带能作为一个单位进行解折叠和重折叠 …… 240
异源染色质是高度组织的，通常会抑制基因表达 …… 242
染色体末端存在一种特殊形式的异染色质 …… 243
着丝粒也包装成异染色质 …… 246
异染色质可能提供了一种抵制移动 DNA 元件的机制 …… 249
有丝分裂染色体由处于最凝聚状态的染色质形成 …… 250
每条有丝分裂染色体都含有巨大结构域这种特征模式 …… 251
单个染色体占据间期细胞核内连续区域 …… 253
小结 …… 255
5 DNA 复制、修复以及重组 …… 257
DNA 序列的维持 …… 257
突变率极低 …… 257
蛋白质中许多突变都是有害的，并被自然消除 …… 258
据我们所知，低突变率对于生命是必需的 …… 259
小结 …… 259
DNA 复制机制 …… 259
碱基配对原则为 DNA 复制和修复提供了基础 …… 259
DNA 复制叉是不对称的 …… 261
DNA 复制的高度忠实性需要多种校对机制 …… 263
只有以 5′→3′方向进行的 DNA 复制能够对错误有效地加以校正 …… 265
一种特殊的核苷酸聚合酶在后随链上合成短 RNA 引物分子 …… 265
特殊蛋白质帮助打开复制叉前面的 DNA 双螺旋 …… 268
移动的 DNA 聚合酶分子通过一个滑动的环保持与 DNA 的连接 …… 269
复制叉上的蛋白质协同作用，形成一个复制机器 …… 271
一种链指导的错配修复系统清除了逃过复制机器检查的复制错误 …… 274
DNA 拓扑异构酶防止复制期间 DNA 乱成团 …… 275
真核生物和细菌的 DNA 复制过程相似 …… 276

小结 …… 279
染色体上 DNA 复制的起始与完成 …… 280
DNA 复制起始于复制起点 …… 280
细菌染色体只有一个 DNA 复制起点 …… 280
真核生物的染色体含有多个复制起点 …… 281
在真核生物中 DNA 复制只在细胞周期的一段时间内进行 …… 284
同一染色体上的不同区域在 S 期的不同时间进行复制 …… 284
高度压缩的染色质复制较晚，而压缩程度较小的染色质中的基因倾向于较早复制 …… 285
在一种简单真核生物芽殖酵母中确定的 DNA 序列充当复制起点 …… 285
一个巨大的多亚基复合物结合在真核生物复制起点上 …… 287
哺乳动物中指定复制起始的 DNA 序列曾一度难以确定 …… 287
新的核小体在复制叉后面组装起来 …… 288
端粒酶复制染色体的末端 …… 289
端粒长度受到细胞和生物体的调控 …… 292
小结 …… 293
DNA 修复 …… 294
如果不存在 DNA 修复，自发的 DNA 损伤将迅速改变 DNA 序列 …… 295
DNA 双螺旋容易修复 …… 296
DNA 损伤可以通过多种途径加以清除 …… 297
DNA 碱基的化学促进损伤的发现 …… 298
双链断裂被有效地修复 …… 299
在对 DNA 损伤的应答中细胞能产生 DNA 修复酶 …… 301
DNA 损伤延迟了细胞周期的进程 …… 302
小结 …… 302
一般性重组 …… 302
一般性重组由两个同源 DNA 分子间碱基配对互作指导进行 …… 303
减数分裂重组由双链 DNA 断裂引起 …… 304
DNA 杂交为一般性重组中碱基配对步骤提供了一种简单模型 …… 305
RecA 蛋白及其同源蛋白质使 DNA 的一条单链能够与 DNA 双螺旋的同源区域配对 …… 305
真核生物中存在 RecA 蛋白的多种同源蛋白质，它们每一种都特化后具有特异的功能 …… 308
一般性重组常常涉及一个 Holliday 连接的形成 …… 308
一般性重组能引起基因转换 …… 309
一般性重组事件在有丝分裂和减数分裂细胞中倾向于产生不同的结果 …… 311
错配校对防止两条不能配对的 DNA 序列之间发生任意重组 …… 313
小结 …… 314
位点特异性重组 …… 314
可移动遗传元件能够通过转座或者保守机制进行移动 …… 315
转座的位点特异性重组能将可移动遗传元件插入到任何 DNA 序列中 …… 315
DNA 转座子提供 DNA 断裂和连接机制进行转移 …… 317
有些病毒利用转座的位点特异性重组将它们自身转移到宿主细胞染色体中 …… 319
逆转录病毒样的逆转座子与逆转录病毒类似，但是缺少蛋白质衣壳 …… 319
人类基因组大部分是由非反转录病毒的逆转座子组成 …… 321
在不同生物中存在不同的占优势地位的转座元件 …… 321
基因组序列揭示出转座元件发生过转移的大概时间 …… 322

保守的位点特异性重组能可逆地重排 DNA …… 323
保守的位点特异性重组能够用来打开或关闭基因 …… 326
小结 …… 327
6 细胞如何解读基因组 …… 329
从 DNA 到 RNA …… 331
部分 DNA 序列转录成 RNA …… 331
转录产生与 DNA 一条链互补的 RNA …… 332
细胞合成几种类型的 RNA …… 336
编码在 DNA 中的信号告诉 RNA 聚合酶从哪里开始，又在哪里结束 …… 336
转录起始和转录终止信号是不同的核苷酸序列 …… 339
真核生物中转录起始需要许多蛋白质 …… 341
RNA 聚合酶Ⅱ需要通用转录因子 …… 342
聚合酶Ⅱ也需要激活蛋白、介导蛋白以及染色质修饰蛋白 …… 342
转录延伸在 DNA 中产生超螺旋张力 …… 345
真核生物中转录延伸与 RNA 加工紧密偶联 …… 347
RNA 加帽是真核生物前体 mRNA 第一种修饰 …… 348
RNA 剪接从新转录的前体 mRNA 中除去内含子序列 …… 350
核苷酸序列为在哪里进行剪接提供了信号 …… 352
RNA 剪接由剪接体完成 …… 353
剪接体利用 ATP 水解提供能量形成各种复杂的 RNA-RNA 重排 …… 353
对前体 mRNA 的有序影响有助于解释如何选择正确的剪接位点 …… 355
另外一套 snRNP 剪接了动物和植物中一小部分内含子 …… 357
RNA 剪接表现出显著的可塑性 …… 358
由剪接体催化进行的 RNA 剪接可能从自我剪接机制演变而来 …… 359
RNA 加工酶产生真核 mRNA 3′端 …… 361
成熟的真核 mRNA 选择性地输出细胞核 …… 362
许多非编码 RNA 也在细胞核内合成和加工 …… 364
核仁是生产核糖体的工厂 …… 366
细胞核含有多种亚细胞核结构 …… 368
小结 …… 372
从 RNA 到蛋白质 …… 372
mRNA 序列编码在一套核苷酸三联体中 …… 372
tRNA 分子将氨基酸与 mRNA 中的密码子匹配 …… 373
tRNA 从细胞核输出前受到共价修饰 …… 375
特异的酶将每个氨基酸与它合适的 tRNA 分子偶联起来 …… 377
RNA 合成酶进行的编辑确保了精确性 …… 378
氨基酸加入到生长多肽链的 C 端 …… 380
RNA 信息在核糖体上解译 …… 381
延伸因子推动翻译向前进行 …… 383
核糖体是一种核酶 …… 386
mRNA 中的核苷酸序列提供了从哪里开始合成蛋白质的信号 …… 388
终止密码子标记翻译的结束 …… 390
蛋白质在多聚体核糖体上合成 …… 391
质量控制机制在翻译的许多阶段发挥作用 …… 393
标准遗传密码中存在较小的变动 …… 393

许多原核生物蛋白质合成的抑制剂是有用的抗生素 …… 396
蛋白质还在合成时就已开始折叠 …… 396
分子伴侣帮助指导许多蛋白质的折叠 …… 397
暴露的疏水区域为蛋白质质量控制提供了关键信号 …… 400
蛋白酶体降解细胞内大部分新合成的蛋白质 …… 401
一种复杂的泛素结合系统标记将要降解的蛋白质 …… 402
许多蛋白质受到可调型破坏的控制 …… 404
异常折叠的蛋白质能够积聚起来，引起破坏性的人类疾病 …… 404
从 DNA 到蛋白质要经过许多步骤 …… 407
小结 …… 408
RNA 世界与生命的起源 …… 408
生命需要自我催化作用（自催化） …… 409
多聚核苷酸不仅能储存信息，还能够催化化学反应 …… 409
在 RNA 世界之前可能存在一个前 RNA 世界 …… 410
单链 RNA 分子能折叠成高度复杂的结构 …… 411
自我复制的分子经历自然选择 …… 412
蛋白质合成是怎样进化的 …… 415
现今所有细胞利用 DNA 作为它们的遗传物质 …… 417
小结 …… 417
7 基因表达的调控 …… 420
基因调控概述 …… 420
多细胞生物中不同类型的细胞含有相同的 DNA …… 421
不同类型的细胞合成不同系列的蛋白质 …… 422
细胞能够改变基因的表达以应答外部信号 …… 422
从 DNA 到 RNA 到蛋白质这条途径中，基因表达可以在许多步骤上受到调控 …… 423
小结 …… 425
基因调节蛋白中的 DNA 结合基序 …… 425
运用细菌遗传学发现了基因调节蛋白 …… 425
DNA 螺旋的外侧可被蛋白质识别 …… 426
DNA 双螺旋的几何学特征由核苷酸序列决定 …… 427
短 DNA 序列是遗传开关的基本组分 …… 427
基因调节蛋白含有能够阅读 DNA 序列的结构基序 …… 429
螺旋-转角-螺旋是最简单也是最常见的 DNA 结合基序之一 …… 430
同源异型结构域蛋白构成一类特殊的螺旋-转角-螺旋蛋白质 …… 432
存在许多种 DNA 结合锌指基序 …… 432
β 折叠也能识别 DNA …… 433
亮氨酸拉链基序不仅介导 DNA 结合，而且介导蛋白质二聚化 …… 435
异源二聚化扩大了基因调节蛋白所能识别的 DNA 序列种类 …… 435
螺旋-环-螺旋也介导二聚化和 DNA 结合 …… 436
还不能预测出所有基因调节蛋白识别的 DNA 序列 …… 438
利用凝胶迁移率变动分析能容易地发现序列特异性 DNA 结合蛋白 …… 439
DNA 亲和层析使序列特异 DNA 结合蛋白的纯化更容易 …… 441
可以确定出一个基因调节蛋白识别的 DNA 序列 …… 442
染色质免疫沉淀技术可以在活细胞中鉴定出基因调节蛋白结合的 DNA 位点 …… 444

小结 …… 444
基因开关如何工作 …… 444
色氨酸阻遏蛋白是在细菌中将基因打开或关闭的一种简单开关 …… 444
转录激活蛋白将基因打开 …… 446
一个转录激活蛋白和一个转录阻遏蛋白调控 lac 操纵子 …… 447
真核细胞中转录调控很复杂 …… 449
真核生物基因调节蛋白从距离调控基因表达 …… 449
真核基因调控区由一个启动子和调节 DNA 序列组成 …… 449
真核基因激活蛋白促进 RNA 聚合酶和通用转录因子在转录起始位点上的组装 …… 451
真核基因激活蛋白修饰局部染色质结构 …… 454
基因激活蛋白协同地发挥作用 …… 456
真核基因阻遏蛋白能以不同的方式抑制转录 …… 456
真核基因调节蛋白常常在 DNA 上装配成复合体 …… 457
调节果蝇发育的复杂基因开关由较小的元件构造而成 …… 459
果蝇 *eve* 基因受到组合调控的调节 …… 461
哺乳动物复杂的基因调控区域也由简单的调节模块构成 …… 463
绝缘子是防止真核基因调节蛋白影响远处基因的 DNA 序列 …… 465
细菌利用可交换的 RNA 聚合酶亚基帮助调节基因转录 …… 466
基因开关是逐渐进化而来 …… 467
小结 …… 468
产生特化细胞类型的分子遗传学机制 …… 468
DNA 重排介导了细菌的相转变 …… 468
一组基因调节蛋白决定了芽殖酵母的细胞类型 …… 470
两种彼此阻遏对方合成的蛋白决定了 λ 噬菌体的遗传状态 …… 472
基因调节环路能用于组建记忆装置以及振荡器 …… 473
昼夜节律钟以基因调节中的反馈环为基础 …… 473
单个蛋白质可以协同一组基因的表达 …… 476
一个关键基因调节蛋白的表达能够引发一整串下游基因的表达 …… 476
真核生物中组合基因调控产生许多不同的细胞类型 …… 478
单个基因调节蛋白能触发整个器官的形成 …… 480
稳定的基因表达模式能够传递到子代细胞 …… 481
染色质结构中广泛的染色体改变可以遗传 …… 482
DNA 甲基化模式在脊椎动物细胞分裂时可以遗传 …… 485
脊椎动物利用 DNA 甲基化将基因锁定在沉默状态 …… 486
基因组印迹需要 DNA 甲基化 …… 487
哺乳动物中 CG 岛大约与 20 000 个基因相连 …… 489
小结 …… 490
转录后调控 …… 491
转录弱化作用引起一些 RNA 分子提前终止 …… 491
选择性 RNA 剪接能从同一个基因产生不同形式的蛋白质 …… 492
自从发现选择性剪接以后，已不得不对基因的定义做出修定 …… 494
在果蝇中性别决定依赖于一系列可调型 RNA 剪接 …… 494
RNA 转录物切割和 poly A 加成的位点发生改变能使一个蛋白质的 C 端发生改变 …… 496
RNA 编辑能改变 RNA 信息的含义 …… 497
从细胞核转运 RNA 可以受到调控 …… 498

有些 mRNA 定位在细胞质中的特定区域 …… 500
结合 mRNA 5′和 3′非翻译区的蛋白质介导了翻译负调控 …… 502
一个起始因子的磷酸化整体上调节了蛋白质合成 …… 503
在翻译起始位点上游 AUG 密码子上的起始能调节真核生物的翻译起始过程 …… 504
内部核糖体进入位点提供了翻译调控的机会 …… 505
mRNA 稳定性的改变能调控基因表达 …… 506
细胞质内 poly A 加成能调控翻译 …… 508
无义介导 mRNA 降解在真核生物中用作一种 mRNA 监视系统 …… 508
细胞利用 RNA 干扰来沉默基因表达 …… 509
小结 …… 510
基因组如何进化 …… 511
拷贝和维持 DNA 的正常机制失灵引起基因组改变 …… 511
两个物种基因组序列的差别与它们独自进化以来经历的时间长短呈比例 …… 512
人类和黑猩猩的染色体非常相似 …… 514
人类和小鼠染色体比较表明了基因组大规模的结构趋异是如何发生的 …… 514
难以重构远古基因组的结构 …… 515
在进化过程中，基因重复和趋异是产生遗传新颖性的关键来源 …… 517
重复的基因发生趋异 …… 518
珠蛋白基因家族的进化表明了 DNA 重复是怎样帮助生物进化的 …… 519
外显子重组可以产生编码新蛋白质的基因 …… 520
基因组序列给科学家留下尚待解开的谜 …… 521
物种的遗传变异为基因组的进化提供了一幅精细的画面 …… 522
小结 …… 523

第 III 部分　方　　法

8　操纵蛋白质、DNA 和 RNA …… 529
细胞分离和培养 …… 530
从组织悬液中分离不同类型的细胞 …… 530
细胞可以在培养皿中培养 …… 532
在无血清，化学成分已知培养基中鉴别特定生长因子 …… 533
真核细胞系是均质细胞的重要来源 …… 534
细胞可以融合形成杂种细胞 …… 535
杂交瘤细胞系是单克隆抗体的持久来源 …… 536
小结 …… 538
细胞组分的分离 …… 538
可以通过超离心分离细胞器和大分子 …… 538
在非细胞体系中可以解释的复杂细胞过程的分子细节 …… 540
可以通过色谱分离蛋白质 …… 541
亲和色谱利用了蛋白质上的特异性结合位点 …… 543
蛋白质的大小和亚基组成可以通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定 …… 543
超过 1000 种蛋白质可以在一次聚丙烯酰胺双向凝胶电泳中分离 …… 545
选择性切割蛋白质产生不同的多肽片段组合 …… 548
质谱可以用来进行肽段测序和蛋白质鉴定 …… 549
小结 …… 551

分离、克隆 DNA 和 DNA 测序 …… 551
可以用限制性内切核酸酶将大分子 DNA 切成片段 …… 552
凝胶电泳分离不同大小的 DNA 分子 …… 554
纯化的 DNA 分子可在体外用同位素或化学标签进行特异标记 …… 554
核酸杂交反应是检测特异性核苷酸序列的灵敏手段 …… 555
DNA 印迹法、RNA 印迹法和电泳分离的核酸分子的杂交 …… 558
用杂交技术可以在细胞或者染色体上对特定的核酸序列进行定位 …… 560
可以从 DNA 文库中克隆基因 …… 560
两种不同的 DNA 文库用于不同的目的 …… 563
cDNA 克隆含有不间断的编码序列 …… 564
分离的 DNA 片段能够进行快速测序 …… 565
核酸序列用于预测蛋白质的氨基酸序列 …… 567
许多生物的基因组都全部测序完成 …… 568
选择的基因片段可以经聚合酶链反应在试管中克隆 …… 569
细胞内的蛋白质可以利用表达载体进行大量的表达 …… 572
小结 …… 574
分析蛋白质的结构和功能 …… 574
蛋白质晶体的 X 射线衍射可以揭示蛋白质的准确结构 …… 575
分子结构也可以通过核磁共振光谱学进行测定 …… 576
序列相似性可以提供蛋白质功能的线索 …… 577
融合蛋白可以用于分析蛋白质功能和在活细胞中追踪蛋白质 …… 578
亲和层析和免疫沉淀可以测定相互关联的蛋白质 …… 580
蛋白质-蛋白质相互作用可以用双杂交系统进行鉴定 …… 581
噬菌体展示的方法也可以检测蛋白质相互作用 …… 582
蛋白质相互作用可以利用表面等离子体共振来进行实时监测 …… 583
DNA 足迹法可以显示蛋白质在 DNA 分子上结合的位置 …… 584
小结 …… 586
研究基因的表达和功能 …… 586
专题 8-1　经典遗传学回顾 …… 586
经典途径从随机突变开始 …… 589
遗传学筛选鉴别突变体在细胞进程中的缺陷 …… 590
互补测验可以揭示两个突变是否发生在同一个基因内部 …… 591
基因定位可以通过连锁分析 …… 592
寻找同源性可以帮助预测基因的功能 …… 594
报道基因可以揭示基因何时何处表达 …… 594
芯片可以一次监测数千种基因的表达 …… 595
目标突变可以揭示基因功能 …… 597
可以按照要求产生含有突变基因的细胞和动物 …… 598
在细菌和一些低等真核生物中细胞中的正常基因可以直接被改造的突变基因代替 …… 598
改造的基因可以用来在二倍体生物中产生特殊的显性失活突变 …… 599
功能获得突变可为基因在细胞或生物体中发挥的功能提供线索 …… 601
可以重新设计基因来产生有任何想要序列的蛋白质 …… 602
改造的基因可以很容易地插入许多动物的生殖系 …… 602
基因打靶可以产生缺失特异基因的转基因小鼠 …… 602
转基因植物对细胞生物学和农业都是重要的 …… 605

大量收集标记的敲除突变体为检测生物体中每个基因的功能提供了工具 …… 607
小结 …… 608
9 细胞显像 …… 610
显微镜下观察细胞的结构 …… 610
光学显微镜能分辨 0.2μm 的细节部分 …… 613
用相差显微镜和微分干涉相差显微镜清晰地观察活细胞 …… 614
电子技术用于增强和分析图像 …… 615
用于显微镜观察的组织通常要被固定和切片 …… 616
细胞中不同的成分可以被选择性染色 …… 617
通过荧光显微技术对特定分子进行细胞定位 …… 618
抗体可用于检测特定分子 …… 620
使用光学显微镜进行复杂的三维物体成像是可能的 …… 621
共聚焦显微镜通过滤去焦平面外的光获取光学截面 …… 622
电子显微镜分辨细胞的细微结构 …… 624
用于电子显微镜的生物标本需要特别准备 …… 626
特定的大分子能用免疫金电子显微镜进行定位 …… 626
用扫描电子显微镜获取表面图像 …… 628
在透射电子显微镜的高分辨率下通过金属阴影来检测表面特征 …… 629
冰冻断裂和冰冻蚀刻电子显微镜方法获取细胞内部的面层图像 …… 630
负染色和低温电子显微成像术能在高分辨率下观察到大分子 …… 632
多重图像能组合到一起提高分辨率 …… 633
来源于不同方向的图像能被组合到一起进行三维重构 …… 633
小结 …… 634
观察活细胞中的分子 …… 635
使用发光指示剂度量细胞内离子浓度的快速变化 …… 635
几种将不透膜的分子导入细胞的方法 …… 636
“笼状”前体分子的光感应活化作用促进了对细胞内动态的研究 …… 637
绿色荧光蛋白用于标记活细胞或组织中的蛋白质 …… 639
光除了用于对微小物体成像外还可用于操纵微小物体 …… 640
可用放射性同位素标记的分子 …… 641
放射性同位素作为示踪分子用于细胞和组织中 …… 642
小结 …… 643

第 IV 部分　细胞的内部构造

10 膜结构 …… 649
脂双层 …… 659
脂双层的流动性依赖于它的成分 …… 653
质膜包含富含有鞘磷脂、胆固醇和某些膜蛋白的脂质筏 …… 656
脂双层的不对称性在功能上是重要的 …… 656
糖脂在所有质膜表面都有发现 …… 658
小结 …… 659
膜蛋白 …… 659
膜蛋白可以通过多种方法和脂双层联在一起 …… 659
大多数跨膜蛋白借助 α 螺旋构象的多肽链穿过脂双层 …… 661

某些β折叠形成大的跨膜通道 …… 662
许多膜蛋白被糖基化 …… 663
用去污剂能溶解并纯化膜蛋白 …… 665
用血影细胞来研究胞质内侧的质膜蛋白 …… 667
血影蛋白是一个细胞骨架蛋白，通过非共价作用和红细胞膜的胞质面相连 …… 668
血型糖蛋白用一个单个的α螺旋穿过红细胞的脂双层 …… 669
红细胞中的带3蛋白是一个促进阴离子转运的多次跨膜蛋白 …… 671
细菌视紫红质是一个质子泵，通过7个α螺旋穿过脂双层 …… 672
膜蛋白通常形成大复合物来行使功能 …… 673
许多膜蛋白在膜平面中扩散 …… 674
细胞可以将蛋白质和脂分子限定在细胞膜中特定区域 …… 677
细胞表面包被有糖残基 …… 679
小结 …… 680
11 小分子的膜运输和膜的电性质 …… 682
膜运输的原则 …… 683
无蛋白质脂双层对离子是高度不渗透的 …… 683
膜运输蛋白可分为两大类：载体蛋白和通道蛋白 …… 684
主动运输通过与能源偶联的载体蛋白介导 …… 684
离子载体可用作增加膜对特异离子通透性的工具 …… 685
小结 …… 686
载体蛋白和膜的主动运输 …… 686
主动运输可被离子梯度驱动 …… 688
质膜中Na^+驱动的载体蛋白调节胞质溶胶pH …… 690
上皮细胞中载体蛋白的不对称分布是溶质跨细胞运输的基础 …… 690
质膜的Na^+-K^+泵是一种ATPase …… 690
一些Ca^{2+}泵和H^+泵也是P型转运ATPase …… 693
Na^+-K^+泵是维持渗透平衡和稳定细胞体积所必需的 …… 693
专题11-1 胞内水平衡：问题及其解决办法 …… 695
合成ATP的膜结合酶是以相反方向起作用的转运ATPase …… 696
ABC运载体是膜转运蛋白的最大家族 …… 697
小结 …… 699
离子通道和膜的电特性 …… 699
离子通道是离子选择性的并在开关两种状态之间转换 …… 699
动物细胞中的膜电势主要依赖于K^+漏电通道和跨质膜K^+梯度 …… 700
专题11-2 能斯特方程的推导 …… 702
当Na^+-K^+泵停止时，静息电位仅缓慢下降 …… 702
细菌K^+通道的三维结构证明离子通道如何起作用 …… 703
神经细胞的功能依赖于它的纵长结构 …… 705
电压门控阳离子通道在电兴奋细胞中产生动作电位 …… 706
专题11-3 用乌贼巨轴突所做的一些经典实验 …… 709
髓鞘形成增加动作电位在神经细胞中传播的速度和效率 …… 711
膜片钳记录表明单个门通道是以全或无的形式开放 …… 712
电压门控阳离子通道在进化上和结构上是相关的 …… 713
递质门控离子通道在化学突触处将化学信号转换成电信号 …… 713

化学突触可以是兴奋型的或是抑制性的 …… 714
神经肌肉接头处的乙酰胆碱受体是递质门控阳离子通道 …… 715
递质门控离子通道是精神活性药物的主要靶点 …… 717
神经肌肉传递涉及 5 组不同离子通道的相继激活 …… 717
各个神经元都是一个复杂计算装置 …… 718
神经计算至少需要 3 类 K^+ 通道的组合 …… 720
哺乳动物海马中的长程增强效应（LTP）依赖于 Ca^{2+} 通过 NMDA 受体通道的输入 …… 722
小结 …… 724
12 细胞内区域和蛋白质分选 …… 727
细胞内的区域化 …… 727
所有真核细胞具有一套相同的膜包被基本细胞器 …… 727
膜包被的细胞器的形态学关系可以从进化发生的角度得到解释 …… 730
蛋白质可以在各分隔之间以不同的方式运动 …… 732
信号序列和信号斑引导蛋白质至细胞内的正确位置 …… 733
专题 12-1 研究信号序列和蛋白质跨膜运输的方法 …… 735
大部分膜包被细胞器并不是从头形成：细胞器自身提供必需信息 …… 736
小结 …… 736
细胞核和细胞质间的分子运输 …… 736
核孔复合体贯穿核被膜 …… 737
核定位信号引导核内蛋白进入细胞核 …… 738
细胞核输入受体结合核定位信号和核孔蛋白 …… 739
细胞核输出和细胞核输入程序一样，方向相反 …… 740
Ran GTP 酶促使核孔复合体定向转运的发生 …… 741
细胞通过调控进入转运装置的途径实现细胞核和细胞质基质间转运的调节 …… 743
核被膜在有丝分裂过程中分解 …… 744
小结 …… 745
线粒体和叶绿体的蛋白质输入 …… 745
蛋白质易位进入线粒体基质依赖于信号序列和蛋白质易位体 …… 746
线粒体前体蛋白以伸展的多肽链形式输入线粒体 …… 747
线粒体前体蛋白从内膜和外膜的接触点输入线粒体基质 …… 748
ATP 的水解和 H^+ 梯度驱动蛋白质输入线粒体 …… 749
线粒体 hsp70 催化的 ATP 水解重复循环使输入过程得以完成 …… 750
转运插入线粒体内膜和进入膜间隙的蛋白质需要 2 个信号序列 …… 751
引导蛋白质插入叶绿体的类囊体膜需要 2 个信号序列 …… 752
小结 …… 752
过氧化物酶体 …… 754
过氧化物酶体利用氧分子和过氧化氢进行氧化反应 …… 754
一个短的信号序列引导蛋白质输入过氧化物酶体 …… 756
小结 …… 756
内质网 …… 757
膜旁核糖体定义糙面内质网 …… 757
光面内质网在某些特殊细胞中大量存在 …… 758
糙面内质网和光面内质网可以通过离心分离 …… 760
信号序列是在输入糙面内质网的蛋白质中首次发现的 …… 761

一种信号识别蛋白（SRP）引导内质网信号蛋白结合糙面内质网膜上特异性受体 …… 762
多肽链通过易位体的含水孔道 …… 763
内质网膜易位并不总要求多肽链同时进行延长 …… 764
易位后大部分可溶性蛋白质的内质网信号序列被切除 …… 765
在单次跨膜蛋白中，唯一的内质网内在信号序列以跨膜 α 螺旋的形式保留在类脂双层膜中 …… 766
起始转移信号和终止转移信号的组合决定了多次跨膜蛋白的拓扑学结构 …… 767
易位多肽链在糙面内质网腔中折叠组装 …… 770
大多数糙面内质网中合成的蛋白质通过加 *N*-连接寡糖而被糖基化 …… 770
寡糖是标记蛋白质折叠状态的标签 …… 772
未正确折叠的蛋白质被输出内质网在细胞质基质中降解 …… 773
内质网中的错误折叠蛋白质可以引发蛋白质舒展反应 …… 774
一些膜蛋白获得共价连接的糖基磷脂酰肌醇锚点 …… 774
大多数类脂双层膜在内质网中组装 …… 775
磷脂交换蛋白帮助从内质网中将磷脂运送至线粒体和过氧化物酶体 …… 778
小结 …… 778

13 细胞内的膜泡运输 …… 781

膜转运的分子机制及各区室多样性的维持 …… 782
专题 13-1 研究囊泡运输的分子机制的方法 …… 783
存在各种类型的有被囊泡 …… 785
网格蛋白的装配驱动囊泡的形成 …… 785
有被囊泡脱离质膜和去包被都是受调节的过程 …… 787
不是所有的转运囊泡都是球形的 …… 789
单体 GTPase 控制被膜的装配 …… 789
SNARE 蛋白和靶 GTPase 指导膜泡转运 …… 790
相互作用的 SNARE 在重新行使功能前需要被掰开 …… 792
Rab 蛋白帮助确保膜泡锚定的特异性 …… 792
SNARE 可以调节膜融合 …… 794
病毒融合蛋白和 SNARE 可能利用相似的机制起作用 …… 795
小结 …… 796
从内质网到高尔基体的运输 …… 796
蛋白质被 COPⅡ包被的运输泡运出内质网 …… 797
只有正确折叠和装配的蛋白质才能离开内质网 …… 798
从内质网到高尔基体的转运是由管状运输簇介导的 …… 798
内质网回收途径利用分选信号 …… 800
许多蛋白质被选择性地留在它们起功能的区室内 …… 801
高尔基体酶跨膜区域的长度决定了它们的细胞定位 …… 801
高尔基体是由一系列有序的间隔组成的 …… 801
寡糖链在高尔基体中经过加工 …… 803
蛋白聚糖是在高尔基体中装配的 …… 804
糖基化的目的是什么？ …… 805
高尔基体由一系列有序的间隔组成 …… 806
高尔基体中的运输可能是通过囊泡或高尔基体的成熟完成的 …… 807
基质蛋白形成一个帮助高尔基体组织的动态的结构支架 …… 808
小结 …… 809
从高尔基体反面网状结构到溶酶体的运输 …… 809

溶酶体是细胞内消化的主要部位 …… 809
溶酶体是一种异质性细胞器 …… 810
植物和真菌的液泡是多样性的溶酶体 …… 811
物质运输到溶酶体的多条途径 …… 811
6-磷酸甘露糖受体识别反面高尔基体网状结构中的溶酶体蛋白 …… 812
M6P 受体在特异的膜之间穿梭 …… 813
溶酶体水解酶的一个信号区提供 M6P 添加的信号 …… 813
GlcNAc 磷酸转移酶的缺失引起人类一种溶酶体贮积病 …… 814
溶酶体也可能经历胞吐途径 …… 815
小结 …… 815
从质膜进入细胞的物质运输：胞吞作用 …… 815
大的颗粒性物质由特殊的吞噬细胞消化 …… 815
胞吞泡由质膜上的有被小窝形成 …… 816
并非所有的胞饮泡都是网格蛋白包被的 …… 817
细胞通过受体介导的胞吞作用转运细胞外的大分子 …… 818
不从胞内体返回的物质被送到溶酶体 …… 820
有些特异的分子被从早期胞内体运回到质膜 …… 820
在前往晚期溶酶体的途中形成多囊泡体 …… 822
大分子能通过跨细胞作用穿过表皮细胞 …… 823
表皮细胞有两种不同的早期胞内体但是只有一种晚期胞内体 …… 825
小结 …… 825
从高尔基体反面网状结构到胞外的运输：胞吐途径 …… 826
许多蛋白质和脂类被自动地从高尔基体运到细胞表面 …… 826
分泌泡从反面高尔基体网状结构出芽 …… 826
分泌泡中的蛋白质在分泌泡形成的过程中通常要经历蛋白质水解过程 …… 829
分泌泡停在质膜附近等待分泌信号以释放内含物 …… 830
调节型分泌可以是一个质膜区及其下的胞质区的局部反应 …… 830
分泌泡的膜组分被迅速地从质膜上移去 …… 830
极性细胞指导蛋白质从反面高尔基网状结构到达质膜合适的区域 …… 831
指导膜蛋白选择性地运到基底膜的胞质分选信号 …… 832
脂筏可能介导到顶部质膜区的鞘糖脂和 GPI 锚定蛋白的筛选 …… 832
突触泡可直接从内吞泡上形成 …… 834
小结 …… 834
14 能量转换：线粒体和叶绿体 …… 837
线粒体 …… 839
线粒体由内外两层膜和两个内部区隔组成的 …… 841
柠檬酸循环产生高能电子 …… 842
化学渗透过程将氧化能量转化成 ATP …… 842
电子经 3 个大的呼吸过程酶复合体的催化由 NADH 传给 O_2 …… 843
随着电子传递，能量以形成电化学梯度的方式储存 …… 844
质子梯度驱动 ATP 合成 …… 845
质子梯度驱动跨膜转运的机制 …… 846
质子梯度是细胞中 ATP 的主要来源 …… 848
细胞线粒体中 ATP：ADP 比值很高 …… 848

ATP 在细胞中具有举足轻重的作用 …… 848
ATP 合酶还具有水解 ATP 和质子泵的功能 …… 850
小结 …… 851
电子传递链及其质子泵 …… 851
容易移动的质子 …… 851
氧化还原电势决定对电子吸引力的大小 …… 852
专题 14-1　氧化还原电位 …… 853
电子传递释放大量的能量 …… 854
呼吸链中的许多电子载体可用分光光度的方法来识别 …… 854
线粒体内膜上镶嵌有呼吸作用三大酶复合体 …… 856
细胞色素氧化酶的铁铜中心高效催化氧气还原 …… 857
线粒体内膜上电子传递通过随机碰撞调节 …… 859
呼吸作用三大酶复合体氧化还原电势的降低为 H^+ 泵出提供能量 …… 859
原子水平上对 H^+ 泵的机制理解 …… 860
H^+ 载体将电子传递和 ATP 合成过程分开 …… 861
呼吸控制正常情况下抑制链中电子的传递 …… 861
机体自身的解偶联剂将褐色脂肪组织中的线粒体转变成生热器 …… 862
细菌也利用化学渗透机制获取能量 …… 862
小结 …… 863
叶绿体和光合作用 …… 863
叶绿体是质体家族中的一员 …… 864
叶绿体类似线粒体但内含有许多区室化的囊泡 …… 864
叶绿体利用光能进行碳的固定 …… 866
核酮糖二磷酸羧化酶催化碳固定 …… 867
每固定 1 分子 CO_2 需要消耗 3 分子的 ATP 和 2 分子的 NADPH …… 867
某些植物的固碳反应通过区隔化来满足低二氧化碳浓度下的生长 …… 868
光合作用依赖于叶绿素分子的光化学特性 …… 870
一个光合体系是由一个反应中心加一个天线复合体组成的 …… 870
在反应中心，被叶绿素捕获的光能从弱的个体中引出强的给电子体 …… 872
非循环光合磷酸化产生 NADPH 和 ATP …… 872
叶绿体可以通过循环光合磷酸化产生 ATP 而不产生 NADPH …… 874
光系统 Ⅰ 和光系统 Ⅱ 有相关结构，与细菌的光合体系相似 …… 874
线粒体与叶绿体中的质子推动力是相同的 …… 875
叶绿体内膜的载体蛋白控制代谢物与胞质的交换 …… 876
叶绿体也执行其他的重要生命物质的合成 …… 877
小结 …… 877
线粒体和质体的遗传系统 …… 877
线粒体和叶绿体含有完整的遗传体系 …… 877
细胞器的生长和分裂决定了细胞中线粒体和质体的数量 …… 879
线粒体和叶绿体基因组的多样性 …… 881
线粒体和叶绿体可能都是从内共生细菌进化来的 …… 881
线粒体基因组的一些特点 …… 882
动物线粒体包括已知的最简单的遗传系统 …… 884
许多细胞器基因含有内含子 …… 884

高等植物的叶绿体含有大约 120 个基因 …… 885
线粒体基因以非孟德尔机制遗传 …… 886
细胞器基因的母系遗传 …… 886
酵母 petite 突变体说明了细胞核在线粒体生物发生中的重要作用 …… 888
线粒体和叶绿体含有由细胞核编码的组织特异性蛋白 …… 889
线粒体的大多数脂类是运入的而叶绿体的大多数脂类是自身合成的 …… 889
为什么线粒体和叶绿体有自己的遗传系统呢？ …… 889
小结 …… 891
电子传递链的进化 …… 891
最早的细胞可能通过发酵产生 ATP …… 891
电子传递链使一些厌氧菌能利用非发酵分子作为它们主要的能量来源 …… 891
光合作用的菌体通过不可耗竭的还原力越过主要的进化障碍 …… 892
藻青菌的光合电子传递链产生的大气中的氧和新的生命形式 …… 894
小结 …… 897
15 细胞通讯 …… 901
细胞通讯的普遍原则 …… 901
胞外信号分子与特定受体结合 …… 901
胞外信号分子可以近距离或远距离起作用 …… 903
自分泌信号传递能协调相同细胞群的命运 …… 905
间隙连接使信号转导信息能被周围细胞共享 …… 906
每个细胞被设定程序对特异组合的胞外信号分子做出反应 …… 906
不同细胞能对相同胞外信号分子做出不同的应答 …… 907
只有当分子寿命短时，分子的浓度才能迅速被调节 …… 908
一氧化氮通过与靶细胞内的酶直接结合进行信号传递 …… 909
核受体是配体激活的基因调控蛋白 …… 910
三大类的细胞表面受体蛋白是离子通道偶联受体、G 蛋白偶联受体以及酶联受体 …… 913
大多数激活的细胞表面受体通过小分子和胞内信号蛋白网络传递信号 …… 914
某些胞内信号蛋白起分子开关的作用 …… 916
胞内信号传递复合体增强了反应的速度、效率和特异性 …… 917
模件结合结构域介导胞内信号蛋白之间的相互作用 …… 919
细胞能对逐渐增加浓度的胞外信号做出反应 …… 920
细胞能记忆某些信号的效应 …… 922
细胞能调节其对信号的灵敏性 …… 922
小结 …… 923
G 蛋白偶联的细胞表面受体介导的信号传递 …… 924
三亚基的 G 蛋白解离后传递来自 G 蛋白偶联受体的信号 …… 924
某些 G 蛋白通过调控 cAMP 的生成进行信号传递 …… 927
cAMP 依赖的蛋白激酶（PKA）介导 cAMP 的大多数效应 …… 929
蛋白磷酸酶使得 PKA 和其他蛋白激酶的作用瞬时 …… 930
某些 G 蛋白通过激活磷脂酶 C-β 激活肌醇磷脂信号传递途径 …… 931
Ca^{2+} 充当一个广泛存在的胞内信使 …… 934
Ca^{2+} 振荡的频率影响细胞反应 …… 934
Ca/钙调蛋白依赖的蛋白激酶（CaM-激酶）介导动物细胞中 Ca^{2+} 的许多作用 …… 935
某些 G 蛋白直接调控离子通道 …… 938

嗅觉和视觉依赖于调控环核苷酸门控离子通道的 G 蛋白偶联受体 …… 939
胞外信号扩增通过使用小的胞质调质和酶促级联反应被极大地扩增 …… 942
G 蛋白偶联受体的脱敏依赖于受体的磷酸化 …… 943
小结 …… 944
细胞表面酶联受体介导的信号转导 …… 945
激活的受体酪氨酸激酶自身磷酸化 …… 945
酸磷化的酪氨基酸充当具有 SH2 结构域的蛋白质的停泊位点 …… 949
鸟苷酸交换因子激活 Ras …… 949
Ras 激活一条包括 MAP 激酶的下游丝氨酸/苏氨酸磷酸化级联反应 …… 952
PI3 激酶产生质膜上的肌醇磷脂的停泊位点 …… 954
PI3 激酶/蛋白激酶 B 信号传递途径能促进细胞存活和生长 …… 957
酪氨酸激酶关联受体的活性依赖于胞质酪氨酸激酶 …… 958
细胞因子受体激活 Jak-STAT 信号转导途径，提供了一条快速进入细胞核的途径 …… 959
某些蛋白酪氨酸磷酸酶可以充当细胞表面受体 …… 961
TGF-β 超家族的信号蛋白通过受体丝氨酸/苏氨酸激酶和 Smad 起作用 …… 963
受体鸟苷酸环化酶直接产生 cGMP …… 964
细菌趋化性依赖于由组氨酸激酶关联受体激活的二元系统信号传递途径 …… 966
小结 …… 968
依赖于可调控的蛋白酶解的信号转导途径 …… 969
受体蛋白 Notch 通过切割被激活 …… 969
Wnt 蛋白结合 Frizzled 受体并抑制 β-连环蛋白的降解 …… 970
Hedgehog 蛋白通过彼此作用相反的 Patched 和 Smoothened 的受体复合体起作用 …… 973
多个胁迫和促炎症反应刺激通过 NF-κB 依赖的信号传递途径起作用 …… 975
小结 …… 976
植物中的信号传递 …… 977
多细胞性和细胞通讯在植物和动物中独立进化 …… 977
受体丝氨酸/苏氨酸激酶在植物中行使细胞表面受体功能 …… 978
乙烯激活二元信号传递途径 …… 979
光敏色素检测红光，隐花色素检测蓝光 …… 980
小结 …… 982
16 细胞骨架 …… 984
骨架纤维的自组装和动态结构 …… 984
各种类型的骨架纤维由蛋白质亚单位构成 …… 985
专题 16-1 形成骨架的三种蛋白质纤维 …… 986
多个原纤维形成纤维的组织方式具有优越性 …… 987
成核过程是骨架纤维聚合体形成的限速步骤 …… 987
专题 16-2 肌动蛋白和微管蛋白的聚合 …… 989
微管蛋白和肌动蛋白亚单位“从头到尾”组装形成的骨架纤维具有极性 …… 991
微管和肌动蛋白丝两端的生长速率显著不同 …… 993
纤维的踏车和动态不稳定是微管蛋白和肌动蛋白上绑定的核苷酸水解的结果 …… 994
踏车和动态不稳定需要消耗能量，但却非常有用 …… 997
其他蛋白质聚合体通过偶联核苷酸水解发生的结构改变是细胞运动所必需的 …… 998
微管蛋白和肌动蛋白在真核生物进化过程中显示出高度的保守性 …… 999
成束的、卷曲螺旋的中间纤维 …… 1000

中间纤维赋予动物细胞机械稳定性 …… 1002
药物能够改变纤维的聚合作用 …… 1004
小结 …… 1006
细胞对骨架纤维的调控机制 …… 1006
微管通过一个含有γ微管蛋白的蛋白质复合体成核 …… 1007
动物细胞中，微管源于中心体 …… 1007
肌动蛋白丝通常在质膜处成核 …… 1008
纤维的延长受游离亚单位结合蛋白的限制 …… 1011
结合在纤维旁侧的蛋白质既能稳定它们，也能使它们不稳定 …… 1012
与纤维末端相互作用的蛋白质能够显著改变纤维动力学 …… 1015
细胞中的纤维被构建成高度有序的结构 …… 1016
中间纤维被交联并成束形成强有力的排列 …… 1017
性质不同的交联蛋白构建肌动蛋白丝不同的装配 …… 1018
割断蛋白调控肌动蛋白丝与微管的长度和动力学行为 …… 1022
细胞骨架元件能附着到质膜上 …… 1024
细胞骨架纤维特殊的束形成了横跨质膜的坚固的附着结构：黏着斑、黏着带和桥粒 …… 1025
胞外信号能够诱导主要的细胞骨架纤维重排 …… 1026
小结 …… 1028
分子马达 …… 1028
肌动蛋白为基础的动力蛋白是肌球蛋白超家族的成员 …… 1029
两种类型微管马达蛋白：驱动蛋白和动力蛋白 …… 1032
肌球蛋白和驱动蛋白在结构上的类似暗示了一个共同的进化起源 …… 1033
动力蛋白通过偶联 ATP 水解产生力量致使构象变化 …… 1034
动力蛋白的动力学符合细胞函数 …… 1037
动力蛋白介导的膜被细胞器的胞内运输 …… 1038
马达蛋白的功能可被调控 …… 1040
肌肉收缩依赖于肌球蛋白Ⅱ和肌动蛋白丝的滑动 …… 1042
肌肉收缩由胞质内 Ca^{2+} 浓度的突然升高引起 …… 1044
心肌是设计精确的机器 …… 1046
纤毛和鞭毛是由微管和胞质动力蛋白构成的动力结构 …… 1047
小结 …… 1050
细胞骨架和细胞行为 …… 1050
在酵母中能够容易地分析细胞极化的机制 …… 1050
特殊的 RNA 分子由细胞骨架定位 …… 1053
很多细胞能够爬过固体基底 …… 1053
质膜的外凸由肌动蛋白的聚合驱动 …… 1055
细胞的黏附和收缩允许细胞推进自己前进 …… 1056
外部的信号可以指导细胞迁移的方向 …… 1060
神经细胞复杂的形态特化依靠细胞骨架 …… 1062
小结 …… 1065
17 细胞周期与程序性细胞死亡 …… 1067
细胞周期概述 …… 1068
在所有真核生物中，细胞周期控制系统都是相似的 …… 1070
在酵母中细胞周期控制系统可以进行详细的遗传学研究 …… 1070

在动物胚胎细胞中可以进行细胞周期调控的生化分析 …… 1071
利用培养细胞研究哺乳动物细胞的细胞周期调控 …… 1073
可以通过各种方法研究细胞周期进程 …… 1074
小结 …… 1075
细胞周期控制系统元件 …… 1075
细胞周期控制系统激活细胞周期中的主要进程 …… 1076
控制系统可以在特殊的检测点阻滞细胞周期 …… 1077
检测点一般通过细胞内的负反馈信号调控 …… 1078
细胞周期控制系统的基础是由细胞周期蛋白激活的蛋白质激酶 …… 1078
Cdk 活性可以被抑制磷酸化或者抑制蛋白阻断 …… 1080
细胞周期控制系统依赖于周期性蛋白质水解 …… 1081
细胞周期调控还依赖于转录调控 …… 1081
小结 …… 1082
细胞内的细胞周期事件控制 …… 1083
每个周期中 S 期 cyclin-Cdk 复合体（S-Cdk）起始一次 DNA 合成 …… 1083
M 期 cyclin-Cdk 复合体的激活诱发进入有丝分裂期 …… 1085
进入有丝分裂期会被不完整的 DNA 复制阻断：DNA 复制检测点 …… 1086
M-Cdk 为复制染色体分离做准备 …… 1087
蛋白质酶解诱发姐妹染色单体分离 …… 1087
未结合染色体阻断姐妹染色单体分离：纺锤体结合检测点 …… 1088
有丝分裂期的结束需要 M-Cdk 的失活 …… 1089
G_1 期是 Cdk 稳定失活的一个时期 …… 1090
在哺乳动物 G_1 期细胞中 Rb 蛋白起控制开关作用 …… 1092
细胞周期进程以某种方式与细胞成长保持一致 …… 1093
细胞周期进程被 DNA 损伤阻断以及 p53：DNA 损伤检测点 …… 1094
小结 …… 1097
程序性细胞死亡（细胞凋亡） …… 1097
凋亡由细胞内蛋白水解激酶介导 …… 1098
procaspase 通过与适配蛋白结合激活 …… 1099
Bcl-2 家族蛋白和 IAP 蛋白是细胞死亡程序中的主要细胞内调控因子 …… 1101
小结 …… 1102
胞外的环境控制细胞的分裂、生长和凋亡 …… 1102
有丝分裂刺激细胞分裂 …… 1103
当细胞进入一个特殊的不分裂时期时，细胞会延迟分裂 …… 1103
有丝分裂原激活 G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk …… 1104
不正常的增殖信号促使细胞周期停止或者细胞凋亡 …… 1104
人类细胞有一个内在的控制限制细胞分裂的数量和时间 …… 1106
胞外的生长因子可以刺激细胞生长 …… 1107
胞外的生存因子抑制细胞凋亡 …… 1108
相邻的细胞竞争胞外的信号蛋白 …… 1108
很多类型的动物细胞需要锚定来进行生长和增殖 …… 1109
一些胞外信号蛋白抑制细胞成长、细胞分裂和存活 …… 1111
复杂的细胞分化调控模式产生并维持机体形状 …… 1112
小结 …… 1114

18 细胞分裂的机制 …… 1116
M 期概述 …… 1117
粘连蛋白和凝缩蛋白协助已复制染色体的定形以便分离 …… 1117
细胞骨架机器在有丝分裂和胞质分裂中都发挥作用 …… 1118
两个机制帮助确定有丝分裂总发生在胞质分裂之前 …… 1119
动物细胞的 M 期依赖于发生在之前间期的中心体复制 …… 1120
M 期传统上被分为 6 步 …… 1122
专题 18-1 动物细胞 M 期的主要步骤（有丝分裂和胞质分裂） …… 1122
小结 …… 1126
有丝分裂 …… 1126
微管在 M 期不稳定性显著增强 …… 1127
相反马达蛋白的相互作用和相反极性的微管驱动纺锤体组装 …… 1129
着丝粒把染色体连接到有丝分裂纺锤体上 …… 1131
微管在中期纺锤体中高度活跃 …… 1132
具有功能的双极纺锤体可以在没有中心体的情况下在染色体周围组装 …… 1135
后期会被延迟，直到所有染色体被定位在中期板 …… 1136
姐妹染色单体在后期突然分离 …… 1137
后期 A 的着丝粒微管在两端解聚 …… 1138
推力和拉力都对后期 B 有所贡献 …… 1139
在有丝分裂末期，核被膜在单独的染色体周围重新形成 …… 1141
小结 …… 1141
胞质分裂 …… 1141
有丝分裂纺锤体的微管决定了动物细胞的分裂平面 …… 1142
一些细胞重新配置它们的纺锤体以对称分裂 …… 1143
收缩环中的肌动蛋白和肌球蛋白 II 产生胞质分裂的动力 …… 1145
封闭膜器官在胞质分裂时期必须被分配到子细胞 …… 1147
有丝分裂可以不伴随胞质分裂发生 …… 1147
在高等植物中成膜体指导胞质分裂 …… 1148
高等生物精巧的 M 期是从原生生物的分裂机制逐渐进化而来的 …… 1149
小结 …… 1152

第 V 部分 在“社会背景”中的细胞

19 细胞连接、细胞黏着和细胞外基质 …… 1157
细胞连接 …… 1158
封闭连接通过上皮细胞层形成了一个选择透过性屏障 …… 1159
锚定连接把相邻细胞的骨架相连或者把细胞骨架与细胞外基质相连 …… 1162
黏着连接把细胞间的肌动蛋白束连接在一起 …… 1163
细胞间中间纤维相连的桥粒连接 …… 1163
整联蛋白把细胞与细胞外基质相连形成的锚定连接：黏着斑和半桥粒 …… 1166
间隙连接允许小分子直接在细胞间传递 …… 1167
一个间隙连接由 6 个跨膜连接蛋白亚基组成 …… 1168
间隙连接具有多种功能 …… 1169
间隙连接的通透性可以调节 …… 1170
在植物中，胞间连丝有着和间隙连接一样的功能 …… 1170

小结 …… 1173
细胞间黏着 …… 1173
动物细胞在原地或者迁移之后可以形成组织 …… 1174
解离的脊椎动物细胞可以通过选择性细胞黏着重新装配成组织 …… 1174
钙黏素介导依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着 …… 1175
钙黏素在发育中有至关重要的作用 …… 1176
钙黏素通过同源聚合的机制介导细胞黏着 …… 1178
钙黏素通过连锁蛋白与肌动蛋白细胞质骨架相连 …… 1178
在血液中选择素介导短暂的细胞黏着 …… 1180
免疫球蛋白超家族成员介导不依赖 Ca^{2+} 的细胞-细胞黏着 …… 1181
多种类型的细胞表面分子平行发挥作用来介导选择性细胞-细胞黏着 …… 1183
非连接的接触可能起始细胞-细胞黏着，然后连接的接触导向和稳定细胞-细胞黏着 …… 1184
小结 …… 1184
动物的细胞外基质 …… 1185
细胞外基质由其中的细胞形成和定向 …… 1186
黏多糖（GAG）链占了大部分空间并且形成亲水凝胶 …… 1186
一般认为透明质素在组织形态发生和修复中有利于细胞迁移 …… 1187
GAG 链与核心蛋白共价连接形成蛋白聚糖 …… 1188
蛋白聚糖可以调节分泌蛋白的活性 …… 1189
在细胞外基质中，GAG 链可能是高度组织化的 …… 1190
细胞表面的蛋白聚糖作为辅助受体发挥作用 …… 1191
胶原是细胞外基质中主要的蛋白质 …… 1192
胶原分泌时，在每个末端有非螺旋化的延伸 …… 1194
分泌后，纤丝前胶原分子被剪切为胶原分子，然后装配成胶原原纤维 …… 1194
与原纤维结合的胶原有助于原纤维的组织装配 …… 1196
细胞帮助胶原原纤维进行装配，它们通过向基质施加压力分泌产生 …… 1196
弹性蛋白赋予组织以弹性 …… 1197
纤连蛋白是帮助细胞附着在基质上的细胞外蛋白 …… 1199
纤连蛋白可以以纤维状或溶解性状态存在 …… 1200
细胞内肌动蛋白纤维调节细胞外纤连蛋白原纤维的装配 …… 1200
基质中糖蛋白有助于引导细胞迁移 …… 1201
基膜主要由类型Ⅳ胶原、层粘连蛋白、巢蛋白和硫酸类肝素蛋白聚糖组成 …… 1202
基膜具有多种功能 …… 1204
细胞外基质可以影响细胞的形状、生长和增殖 …… 1206
细胞外基质组分的可调控降解有助于细胞迁移 …… 1207
有三种基本的机制来保证蛋白酶对基质组分的降解是受严谨控制的 …… 1208
小结 …… 1209
整联蛋白 …… 1209
整联蛋白是跨膜异源二聚体 …… 1210
整联蛋白必须与细胞质骨架相互作用才使细胞与细胞外基质结合 …… 1211
细胞调节它们整联蛋白的活性 …… 1212
整联蛋白激活细胞内的信号通路 …… 1213
小结 …… 1215
植物细胞壁 …… 1215

细胞壁的成分依赖于细胞类型 …… 1215
植物细胞壁的抗张强度使植物细胞具有膨压 …… 1217
纤维素微原纤维与果胶多聚糖的网状结构交织形成初生细胞壁 …… 1217
微管对细胞壁沉积的导向作用 …… 1219
小结 …… 1222
20 生殖细胞和受精 …… 1225
性别的好处 …… 1225
在多细胞的动物和大多数的植物中，双倍期是长期复杂的，而单倍期是短暂简单的 …… 1226
有性生殖为生活在复杂多变环境里的生物提供了竞争优势 …… 1228
小结 …… 1228
减数分裂 …… 1228
减数分裂中复制的同源染色体配对 …… 1229
配子是经过两次细胞减数分裂产生的 …… 1230
同源非姐妹染色单体之间的交换促进了基因的重排 …… 1230
交叉在减数分裂期染色体分离时有着重要的作用 …… 1233
性染色体的配对确保它们也能彼此分离 …… 1234
联会复合体的形成标志着减数分裂染色体配对达到顶峰 …… 1235
重组结标明了基因重组的位点 …… 1236
遗传图谱揭示了易于发生交换的位点 …… 1236
连续两次不进行 DNA 复制的细胞分裂结束了减数分裂 …… 1237
小结 …… 1239
哺乳动物的原始生殖细胞和性别决定 …… 1239
原始生殖细胞进入正在发育的性腺 …… 1240
Y 染色体上的 *Sry* 基因能让雌性胚胎重新发育成雄性胚胎 …… 1241
小结 …… 1243
卵子 …… 1243
卵子储存了大量的营养物质，而且还有一层精巧的外膜，是高度专一的独立发育 …… 1243
各个时期的卵子发育 …… 1244
卵母细胞采取特殊的机制生长来增长自身的体积 …… 1247
小结 …… 1248
精子 …… 1248
精子高度适应于把它们的 DNA 释放到卵子中 …… 1249
大多数哺乳动物持续地产生精子 …… 1249
小结 …… 1252
受精 …… 1253
物种特异地结合到透明区诱导了精子进行顶体反应 …… 1254
卵子皮层反应确保了仅有一个精子使卵子受精 …… 1255
精子-卵子融合的机制目前仍然不清楚 …… 1256
精子为受精卵提供了一个中心粒 …… 1257
小结 …… 1259
21 多细胞生物的发育 …… 1261
动物发育的通用机制 …… 1261
动物具有相同的基本解剖学特征 …… 1262
多细胞动物调控细胞间相互作用和基因调控蛋白的保守性 …… 1263

调控 DNA 序列决定了发育程序 …… 1264
胚胎学研究揭示了细胞间相互作用机制 …… 1265
通过突变寻找控制发育过程的基因 …… 1266
细胞命运决定早于细胞变化 …… 1267
细胞位置的记忆性影响它们在体内的定位 …… 1267
通过不对称分裂产生两个不同的子代细胞 …… 1268
可诱导的相互作用可以使最初完全一致的细胞产生分化 …… 1269
形态发生素是长距离诱导信号，能够产生多级作用 …… 1270
细胞外信号分子抑制物可以塑造细胞对诱导物的响应 …… 1271
细胞内在程序决定发育的时间程序 …… 1271
最初的图案建立在一小块区域内并随着胚胎生长被顺序诱导 …… 1272
小结 …… 1273
线虫：通过单个细胞来研究发育 …… 1273
线虫解剖学结构简单 …… 1273
线虫发育的细胞命运可以被精确预言 …… 1274
母源基因产物控制了受精卵的不对称分裂 …… 1274
细胞-细胞间相互作用建立了更复杂的图案 …… 1275
显微技术和遗传学揭示了发育控制的逻辑；基因克隆和测序揭示了分子机制 …… 1277
受到发育信号影响后，细胞会发生改变 …… 1277
异时性基因控制了发育的时间表 …… 1277
细胞在计时其内部程序时并不计数细胞分裂 …… 1278
细胞凋亡是发育程序的一部分 …… 1279
小结 …… 1279
果蝇身体图案形成的分子遗传学机制 …… 1279
昆虫身体由一系列体节构成 …… 1280
果蝇从多核体开始其发育 …… 1281
遗传筛选鉴定与特定早期图案建立相关的基因 …… 1283
卵和周围细胞的相互作用决定了胚胎轴：卵极性基因的功能 …… 1284
背腹信号基因建立了核基因调控蛋白的浓度梯度 …… 1286
Dpp 和 Sog 建立了第二个形态发生浓度来精细调控胚胎背部的发育 …… 1286
昆虫的背腹轴对应于脊椎动物的腹背轴 …… 1288
三组体节极性基因决定了前后轴的母源图案并细分胚胎 …… 1288
分节基因的表达受位置信号层次的调控 …… 1289
DNA 调控序列的模块化特性使得基因具有多种独立的功能 …… 1289
卵极性基因、间隙基因和成对控制基因建立了瞬时图案并被其他基因维持 …… 1291
小结 …… 1292
同源选择基因和前后轴的图案形成 …… 1293
HOX 决定了前后的不同 …… 1293
同源选择基因编码了 DNA 结合蛋白并与其他基因调控蛋白相互作用 …… 1293
同源选择基因按照其在 HOX 复合物中的顺序表达 …… 1294
同源异型复合物长期记忆其位置信息 …… 1294
脊椎动物中的同源异型选择基因也控制前后体轴 …… 1296
小结 …… 1298
器官发生和附肢形成 …… 1298

条件诱导的体细胞突变使我们能够研究发育晚期的基因功能 …… 1299
成体果蝇的身体是由成虫盘发育而来 …… 1299
同源异型选择基因对成虫盘的位置信息记忆具有重要作用 …… 1299
特定的调控基因决定将要发育为附肢的细胞 …… 1300
昆虫翅成虫盘的分块现象 …… 1302
4 个重要的信号通路控制翅成虫盘的图案：Wigless、Hedgehog、Dpp 和 Notch …… 1303
每个分区的大小受细胞间相互作用的调控 …… 1303
脊椎动物肢体形成的相似机制 …… 1305
特定类型基因调控蛋白的表达预示了细胞分化 …… 1306
侧向抑制从预神经细胞簇中选出感觉神经母细胞 …… 1307
侧向抑制促使感觉母细胞的后代向最终命运分化 …… 1307
不对称分裂的平面极性由 Frizzled 调控的信号决定 …… 1309
侧向抑制和不对称分裂共同调控身体神经元的产生 …… 1309
Notch 信号调控了不同组织中不同类型细胞构建的美丽图案 …… 1311
一些关键的调控基因决定了细胞类型；其他的激活建立整个器官的程序 …… 1311
小结 …… 1311
细胞运动和脊椎动物体型的形成 …… 1312
胚胎极性依赖于卵极性 …… 1312
细胞分裂由一细胞产生多细胞 …… 1313
原肠胚发育将形成具有简单肠道的三胚层结构 …… 1313
原肠胚运动是可被精确预言的 …… 1315
化学信号引发机械过程 …… 1315
细胞包装改变为原肠胚运动提供了动力 …… 1316
细胞间粘连分子的改变促进细胞重排 …… 1318
脊索延伸，神经板卷曲形成神经管 …… 1318
基因表达振荡器控制了中胚层形成体节 …… 1319
胚胎组织被迁移细胞侵袭 …… 1320
迁移细胞的分布依赖于生存因子和诱导信号 …… 1321
脊椎动物身体的左右不对称性由早期胚胎分子不对称性决定 …… 1321
小结 …… 1323
小鼠 …… 1324
哺乳动物发育具有特异的开始方式 …… 1324
早期哺乳动物胚胎是高度可调控的 …… 1325
从哺乳动物胚胎可以获得全能干细胞 …… 1326
上皮细胞核间充质细胞间相互作用产生了分支管状结构 …… 1327
小结 …… 1328
神经的发育 …… 1328
产生的部位和时间不同导致不同特征的神经元 …… 1329
神经元产生的时间特异性决定了其所形成的相互间连接的特异性 …… 1331
每一个伸展中的轴突和树突顶部都有一个生长锥的结构 …… 1332
在体内，生长锥使神经突起能沿着精确设定的路线生长 …… 1334
生长锥的敏感性在其运动过程中会发生改变 …… 1335
靶组织分泌神经营养因子控制神经细胞的生长和存活 …… 1336
神经元的特异性形成有序的神经元图谱 …… 1337
视网膜不同区域发出的轴突对于视顶盖中抑制分子浓度梯度的响应不同 …… 1339

突触联系模式的重塑取决于突触活动强度 …… 1340
后天经验参与重塑大脑的突触联系模式 …… 1342
成人的记忆机制可能和发育时的突触重塑机制是一致的 …… 1343
小结 …… 1343
植物发育 …… 1343
拟南芥作为一种植物分子遗传学的模式生物 …… 1344
拟南芥基因组富含发育控制基因 …… 1345
胚胎发育开始于根-茎轴向的建立，结束于种子的形成 …… 1346
专题 21-1　开花植物早期发育的特征 …… 1347
专题 21-2　组成高等植物的细胞类型和组织 …… 1348
植物的各部分是由分生组织产生的 …… 1351
幼苗的发育依赖于环境信号 …… 1352
一种新结构的形成依赖于细胞分裂和生长的方向 …… 1352
每一植物模块都是由分生组织的一个原基生长而来的 …… 1353
细胞信号维持着分生区的结构 …… 1354
分生区的突变体可以通过改变细胞的行为来改变植物的拓扑结构 …… 1356
长距离的激素信号在植物的各个部分协同调节植物的发育 …… 1357
同源选择基因特异于花的各个部分 …… 1358
小结 …… 1360
22　组织学：组织中细胞的生存和死亡 …… 1363
表皮及表皮通过干细胞再生 …… 1363
上皮细胞构成一道多层的防水屏障 …… 1364
正在分化的表皮细胞在其成熟过程中合成一系列不同的角质素 …… 1365
表皮由基底层的干细胞更新 …… 1366
干细胞产生的两种子细胞并不一定总是不相同 …… 1366
基底层包含干细胞和短暂扩充细胞 …… 1367
表皮的更新受到许多相互影响的信号控制 …… 1369
乳腺经历发育和退化的重复循环 …… 1370
小结 …… 1371
感觉上皮 …… 1372
嗅觉神经元不断地被更新 …… 1372
听毛细胞的终生持续使用 …… 1373
绝大多数永久细胞进行部分更新：视网膜感光细胞 …… 1375
小结 …… 1376
呼吸道和消化道 …… 1377
不同类型的肺泡旁细胞之间相互协作 …… 1377
杯状细胞、纤毛细胞、巨噬细胞的协作保证了呼吸道的清洁 …… 1378
小肠内壁细胞的自我更新快于其他任何器官 …… 1379
Wnt 信号途径中的成员用于维持消化道干细胞的数量 …… 1381
肝是消化道和血液之间的汇合处 …… 1381
肝细胞的消亡或损失刺激肝细胞增殖 …… 1382
小结 …… 1383
血管和内皮细胞 …… 1383
内皮细胞分布于所有血管内壁 …… 1384

现有内皮细胞的简单分裂产生新的内皮细胞 …… 1385
新的毛细血管通过芽殖形成 …… 1385
血管发生受到外围组织所释放的因子的控制 …… 1387
小结 …… 1388
多能干细胞的更新：血细胞的形成 …… 1388
三种主要的白细胞：粒细胞、单核细胞和淋巴细胞 …… 1389
骨髓中每种血细胞的产生受到分别调控 …… 1391
骨髓中含有造血干细胞 …… 1392
所有类型的血细胞都由多能干细胞产生 …… 1394
血细胞的定型是分步进行的 …… 1394
定型祖代细胞的分裂使特化血细胞的数量扩增 …… 1396
干细胞依赖基质细胞发出的接触信号 …… 1396
调节造血的因子可以通过体外培养进行研究 …… 1397
红细胞的生成依赖促红细胞生成素 …… 1397
多种集落刺激因子（CSF）影响中性粒细胞和巨噬细胞的产生 …… 1398
造血细胞的行为具有一定的随机性 …… 1399
细胞存活调节和细胞增殖调节同等重要 …… 1400
小结 …… 1400
骨骼肌的发生、调整和再生 …… 1401
新的骨骼肌纤维由肌原细胞融合产生 …… 1401
肌细胞通过改变胞内蛋白质异型体改变自身特征 …… 1403
骨骼肌纤维分泌筒箭毒碱限制自身的生长 …… 1403
一些肌原细胞以静息干细胞的形式存在于成年个体内 …… 1404
小结 …… 1405
成纤维细胞及其转化：结缔组织细胞家族 …… 1405
成纤维细胞受到不同化学信号的刺激改变自身的性质 …… 1405
细胞外基质可能通过影响细胞形状及其附着来影响结缔组织细胞的分化 …… 1407
脂肪细胞可以从成纤维细胞发育而来 …… 1407
脂肪细胞分泌的瘦素蛋白通过负反馈抑制进食活动 …… 1408
骨骼由其细胞不断改造重建 …… 1409
成骨细胞分泌骨基质，而破骨细胞则侵蚀之 …… 1410
发育过程中，破骨细胞侵蚀软骨为骨骼的发生创造空间 …… 1412
小结 …… 1413
干细胞工程 …… 1414
胚胎干细胞可用于产生身体的任何部分 …… 1414
表皮干细胞可在体外扩增培养用于组织修复 …… 1416
神经干细胞可用于补充中枢神经系统细胞 …… 1416
成年个体组织的干细胞可能比想象的更具多能性 …… 1417
小结 …… 1417
23 癌症 …… 1419
癌症的形成是一个微进化过程 …… 1419
癌细胞的无限增殖和移居异质组织 …… 1420
大多数癌症来源于单个异常细胞 …… 1422
由体细胞突变引起的癌症 …… 1422

单个突变不足以引发癌症 …… 1423
从轻度变异细胞缓慢发展而来的癌症 …… 1424
进行性肿瘤包含连续几轮突变和自然选择 …… 1426
大多数人类癌细胞在遗传上是不稳定的 …… 1427
癌性生长常常依赖于对细胞死亡和细胞分化控制的缺陷 …… 1428
许多癌细胞都脱离固有的细胞增殖界限 …… 1430
恶性癌细胞在一种异己环境中生存和增殖才能转移 …… 1431
6 个关键特性使细胞能够进行恶性生长 …… 1431
小结 …… 1433
可预防的癌症病因 …… 1433
许多但不是所有的致癌因子都损伤 DNA …… 1434
不改变细胞 DNA 序列的因素能加速癌瘤发生 …… 1435
病毒和其他感染促成一部分重要的人类癌症 …… 1437
鉴别致癌物展现出避免癌症的途径 …… 1438
小结 …… 1439
癌症关键基因的发现 …… 1440
鉴别功能获得型突变和功能缺失型突变的各种方法 …… 1440
癌基因通过其显性转化效应而被鉴定 …… 1440
肿瘤抑制基因有时可通过研究罕见的癌遗传综合征来鉴定 …… 1442
即使没有从癌遗传综合征获得线索也能鉴定肿瘤抑制基因 …… 1443
癌瘤中的突变基因可通过多种途径而激活过度或不足 …… 1444
寻找肿瘤关键基因仍在继续 …… 1446
小结 …… 1446
癌细胞行为的分子基础 …… 1447
研究发育中的胚胎和转基因小鼠有助于揭示癌症关键基因的功能 …… 1447
许多癌症关键基因调节细胞分裂 …… 1449
调控细胞凋亡的基因的突变允许癌细胞逃离自杀 …… 1450
p53 基因的突变允许癌细胞在发生 DNA 损伤时存活并增殖 …… 1451
DNA 肿瘤病毒通过阻断关键肿瘤抑制基因的行为激活细胞复制装置 …… 1452
端粒缩短可能为人类癌症铺路 …… 1453
在一群端粒缺陷的细胞中，p53 的丢失打开了一条通往癌症的林荫大道 …… 1454
导致转移的突变仍然是一个谜 …… 1455
结肠直肠癌通过一连串的可见突变而缓慢演化 …… 1457
大多数结肠直肠癌病例的共同点是都有几个关键的遗传损伤 …… 1459
DNA 错配修复的缺陷是患结肠直肠癌的另一途径 …… 1460
进行性肿瘤的每一步可能都与特异突变相关 …… 1461
每例癌症都有一组特异的遗传损伤 …… 1462
小结 …… 1462
癌症治疗：现在与未来 …… 1463
寻找癌症疗法是困难的，但并非没有希望 …… 1463
当前疗法利用细胞周期控制的丧失和癌细胞的遗传不稳定性 …… 1463
癌症能产生对治疗的抗性 …… 1463
新疗法可能会出自我们的癌症生物学知识 …… 1464
可将治疗设计成攻击缺乏 p53 的细胞 …… 1465

肿瘤生长可通过切断癌细胞的血液供应而被阻断 …… 1465
可以设计以特异癌基因蛋白为靶的小分子 …… 1465
对细胞生物学的理解导致合理而简明的内科治疗 …… 1466
小结 …… 1468
24 获得性免疫系统 …… 1470
淋巴细胞和获得性免疫的细胞基础 …… 1471
获得性免疫需要淋巴细胞 …… 1472
天然免疫系统和获得性免疫系统一起发挥作用 …… 1472
B 淋巴细胞在骨髓中发育；T 淋巴细胞在胸腺中发育 …… 1474
获得性免疫系统通过克隆选择发挥作用 …… 1475
大多数抗原激活许多不同的淋巴细胞克隆 …… 1477
免疫记忆是由于克隆扩增和淋巴细胞分化的结果 …… 1477
获得性免疫耐受确保自身抗原免受攻击 …… 1478
淋巴细胞不断地循环通过外周淋巴器官 …… 1480
小结 …… 1482
B 细胞和抗体 …… 1483
B 细胞使抗体成为细胞表面受体和分泌分子 …… 1483
一个典型的抗体有两个完全相同的抗原结合位点 …… 1484
抗体分子由重链和轻链组成 …… 1485
重链可分为 5 大类，每类都具不同的生物学特性 …… 1485
抗原抗体相互作用强度依赖于抗原结合位点的数目和亲和力 …… 1489
轻链和重链由恒定区和可变区组成 …… 1491
轻链和重链由重复的 Ig 结构域组成 …… 1492
抗原结合位点由超变环构成 …… 1492
小结 …… 1494
抗体多样性的产生 …… 1494
抗体基因是在 B 细胞发育过程中由独立的基因片段组装而成 …… 1495
每个可变区都由一个以上的基因片段编码 …… 1496
基因片段的不精确连接大大增加了 V 区的多样性 …… 1496
抗原驱动的体细胞突变精确调整抗体反应 …… 1498
V(*D*)*J* 连接的控制保证了 B 细胞的单特异性 …… 1499
被抗原激活后，B 细胞从制造膜结合抗体转变成制造分泌型的相同抗体 …… 1500
B 细胞能转换它们所制造的抗体的类 …… 1500
小结 …… 1501
T 细胞和 MHC 蛋白 …… 1502
T 细胞受体是类抗体异二聚体 …… 1502
抗原呈递细胞激活 T 细胞 …… 1503
细胞毒效应 T 细胞诱导受感染的靶细胞自杀 …… 1504
辅助效应 T 细胞帮助激活巨噬细胞、B 细胞和细胞毒 T 细胞 …… 1506
T 细胞识别结合于 MHC 蛋白的外来多肽 …… 1507
在了解其功能之前，MHC 蛋白是在移植反应中被鉴定出来的 …… 1507
MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白是结构上类似的异二聚体 …… 1508
MHC 蛋白与多肽结合并与 T 细胞受体相互作用 …… 1510
MHC 蛋白帮助指挥 T 细胞到达其适当的靶目标 …… 1513

CD4 和 CD8 共受体结合至 MHC 蛋白的不变部分 …… 1513
细胞毒 T 细胞识别与 MHC Ⅰ类蛋白结合的外来胞质溶胶蛋白片段 …… 1514
辅助 T 细胞识别与 MHC Ⅱ类蛋白有关的内吞外来蛋白质的片段 …… 1516
可能有用的 T 细胞在胸腺中受到正选择 …… 1518
能被自身肽活化的许多发育中的 T 细胞在胸腺中被剔除 …… 1518
MHC 蛋白的功能解释其多态性 …… 1520
小结 …… 1520
辅助 T 细胞和淋巴细胞的激活 …… 1521
抗原呈递细胞表面的共刺激蛋白帮助激活 T 细胞 …… 1521
辅助效应 T 细胞的亚类决定获得性免疫应答的性质 …… 1524
T_H1 细胞在感染位点帮助激活巨噬细胞 …… 1526
抗原结合给 B 细胞提供第一个信号 …… 1527
辅助 T 细胞给 B 细胞提供第二个信号 …… 1529
免疫识别分子属于一个古老的超家族 …… 1530
小结 …… 1532
25 病原体、感染和先天性免疫 …… 1535
病原体导论 …… 1535
病原体进化出与其宿主相互作用的特殊机制 …… 1536
感染的体征和症状可能由病原体或宿主的应答而引起 …… 1537
病原体在种系发生上具有多样性 …… 1537
细菌病原体携带专门的致病基因 …… 1538
真菌和原生动物寄生虫有多种形式的复杂生活史 …… 1542
病毒从其增殖的各个角度利用宿主细胞的机制 …… 1544
朊病毒是传染性蛋白质 …… 1547
小结 …… 1548
感染的细胞生物学 …… 1548
病原体跨过保护性屏障在宿主内定居 …… 1548
定居于上皮细胞的病原体必须避免被宿主清除 …… 1549
细胞内病原体进入和离开宿主细胞的机制 …… 1551
病毒与展示在宿主细胞表面的分子结合 …… 1552
病毒通过膜融合、孔形成或膜破裂进入宿主细胞 …… 1553
细菌通过吞噬作用进入宿主细胞 …… 1555
细胞内寄生物积极侵入宿主细胞 …… 1556
许多病原体改变宿主细胞内的膜运输 …… 1558
病毒和细菌利用宿主细胞的细胞骨架在胞内运动 …… 1561
病毒接替宿主细胞的代谢作用 …… 1563
病原体能改变宿主有机体的行为以便于病原体的传播 …… 1565
病原体的快速进化 …… 1565
耐药性病原体是一个日趋紧张的问题 …… 1568
小结 …… 1568
天然免疫 …… 1569
上皮细胞表面有助于预防感染 …… 1569
人的细胞识别病原体的保守特征 …… 1570
补体激活将病原体作为吞噬作用或溶菌作用的靶目标 …… 1571

Toll-like 蛋白是模式识别受体的一个古老家族 …… 1573
吞噬细胞寻找、吞噬和消灭病原体 …… 1575
活化的巨噬细胞招募其他吞噬细胞至感染位点 …… 1576
病毒感染细胞采取有力措施阻止病毒复制 …… 1577
天然杀伤细胞诱导病毒感染细胞自杀 …… 1578
小结 …… 1579

13　细胞内的膜泡运输

膜转运的分子机制及各区室多样性的维持
从内质网到高尔基体的运输
从高尔基体反面网状结构到溶酶体的运输
从质膜进入细胞的物质运输：胞吞作用
从高尔基体反面网状结构到胞外的运输：胞吐途径

每一个细胞都必须摄取营养物质并与周围的环境进行交流。在原核细胞中，所有这些过程都是跨过质膜的运动。例如，细胞分泌的消化酶穿过质膜进入细胞基质，细胞还将细胞外空间经过消化产生的小的代谢产物通过质膜运入胞质。而真核细胞则进化出了一套精细的内膜系统是它能通过胞吞作用吸收大分子然后将它们运入溶酶体中由其中的水解酶消化。随后，大分子降解产生的代谢物被直接从溶酶体运到细胞质中。除了通过内吞途径摄入大分子外，内膜系统还允许真核细胞调节新合成的蛋白质、碳水化合物和脂质排出胞外。生物合成-分泌途径允许细胞通过一系列步骤修饰它所产生的分子，储藏它们一直到需要时，然后将它们通过胞吐作用经特殊的细胞表面结构域运至胞外。图 13-1是内吞途径和生物合成-分泌途径的略图，它们最终将质膜和深埋在细胞内部的内质网膜联系起来。

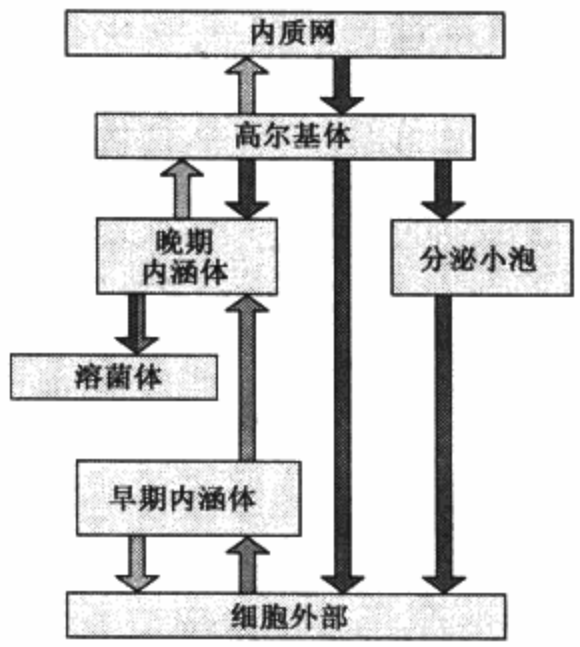


图 13-1　内吞途径和生物合成-分泌途径

沿生物合成-分泌和内吞途径的每个膜包围隔室的内部空间或腔在拓扑学上相当于其他隔室的腔。而且，这些隔室之间不断进行着通讯，分子通过许多种有膜包围的泡从供体隔室传

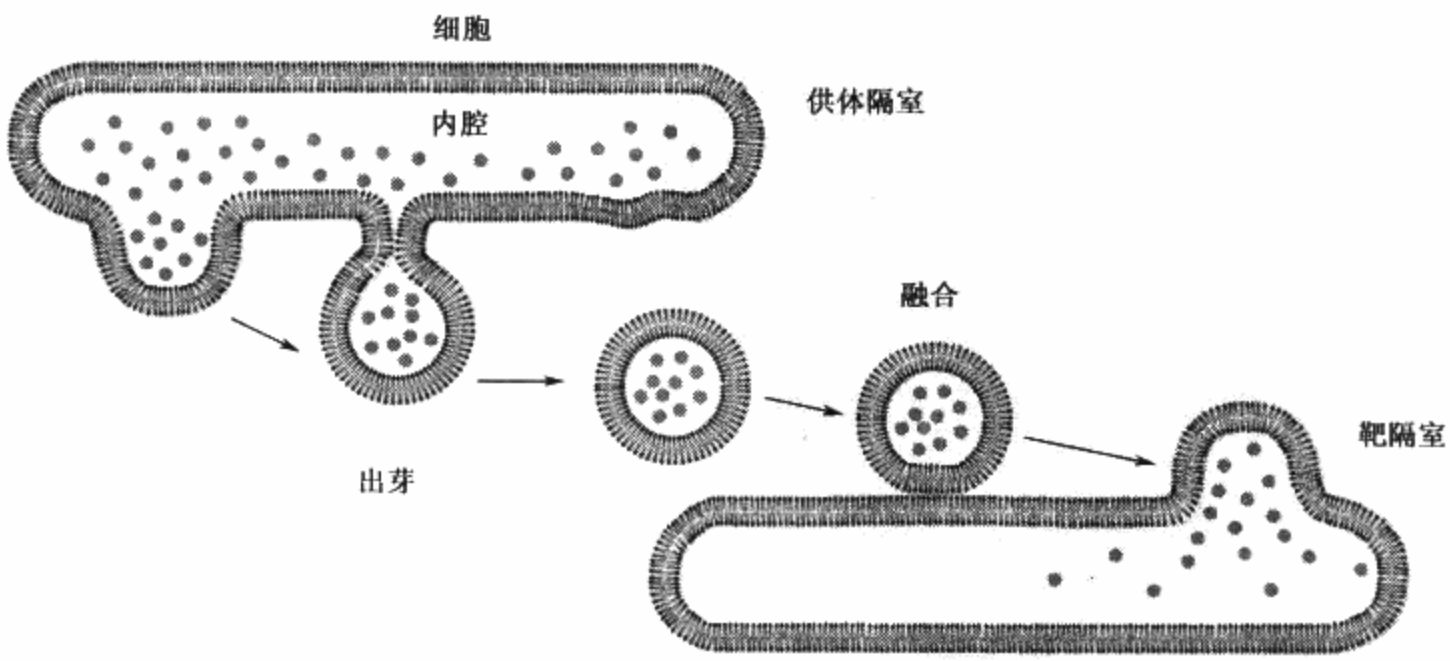


图 13-2　囊泡运输

递给靶隔室。其中一些泡是球形小泡，而其他的则是较大的不规则泡或供体隔室的碎片。我们将这些泡统称为运输泡（transport vesicle）。携带内膜组分和可溶性分子的囊泡（图 13-2）从一种膜上不断出芽，并与另一种膜融合。这种膜之间高度有组织、有方向性的转运流使得细胞能够向外分泌物质和摄取营养。生物合成-分泌途径从内质网到高尔基体和细胞表面或溶酶体，而内吞途径则从质膜向内运输（图 13-3）。无论哪一种情况，携带膜组分和选择性蛋白质重返来源区的相反方向的膜流动使各区域膜之间的膜流动达到平衡。

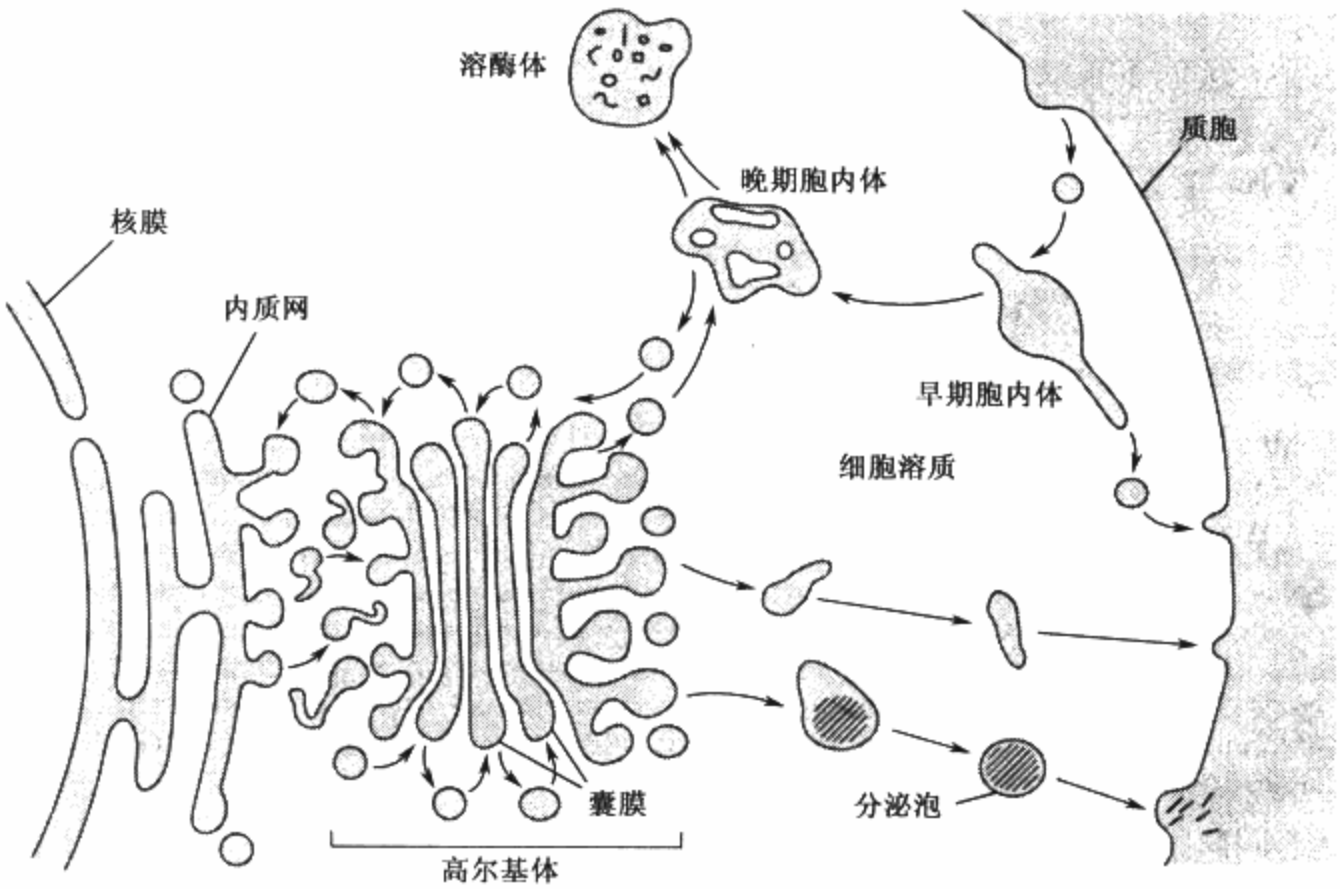


图 13-3　真核细胞内各区室间生物合成分泌和胞吞途径

每一个区室都包围着称为内腔的，与细胞外拓扑等同的一定空间。所有的区室都通过囊泡运输与其他区室以及细胞外进行物质交流。在生物合成分泌途径中（红色箭头），蛋白质分子被从内质网中转运到质膜或（通过晚胞内体）溶酶体中。在胞吞途径中（绿色箭头），被起源于质膜的囊泡摄入的分子被运送到早胞内体中，然后（通过晚胞内体）到溶酶体。许多被胞吞入内的分子从早胞内体返回细胞表面被重新利用；与此相似，有许多分子从晚胞内体重返高尔基体，一些从高尔基体重返内质网。所有这些折返途径用蓝色箭头显示（图 13-1）

为了执行其功能，从每一区域膜出芽生成的转运泡都必须经过选择。特定的转运泡只能吸收适当的蛋白质，并且与适当的目标膜融合。例如，携带货物从高尔基体到质膜的囊泡不能携带将滞留于高尔基体中的蛋白质并且它只能与囊泡融合而不能与其他细胞器融合。

在这一章，首先阐述作为所有物质转运的基础的出芽和融合的分子机制。接着，我们讨论一些基本问题：隔室之间的差异怎样在运输时得以维持。最后，在追溯与这些细胞器有关的途径时，我们讨论高尔基体、溶酶体、分泌泡和内体的功能。

膜转运的分子机制及各区室多样性的维持

转运过程介导 10 种以上的区室组分的连续交换，这些化学组成不同，有膜包被的区室共同组成了生物合成分泌和胞吞途径。在这种大规模交换存在的情况下，每一个区室怎样维持它自身特异的特征呢？为了回答这个问题，首先必须考虑是什么造成了区室的特异性。最重要的是包被的膜的组成：这些膜的胞质面上特异的分子标记作为转运的引导信号并确保转运

泡与正确的区室融合，从而指导区室之间转运模式。然而，很多膜标记存在于不止一种细胞器上，因此是这些分子标记的特意组合给了每一种细胞器独特的分子定位。

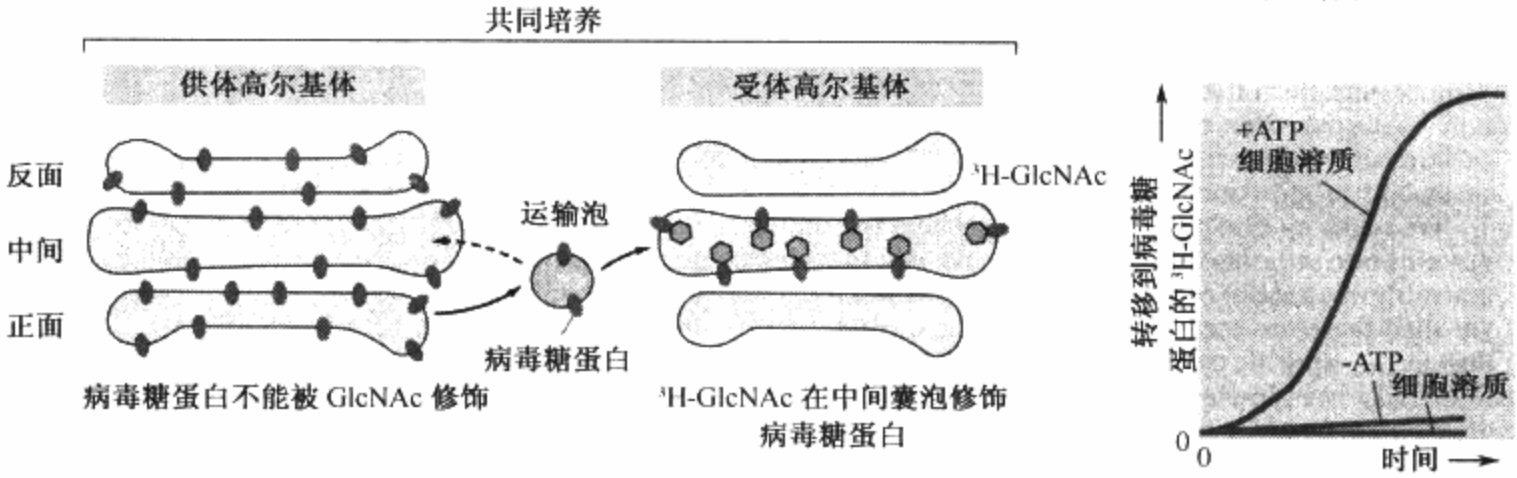
这些分子标记存在区域富集但在另外的区室浓度却很低，这是怎么回事呢？为了回答这个问题，首先需要考虑局部膜片是怎样富集特异的物质从一个区室出芽转移到另一个区室的。在这一部分将介绍这是怎样实现的。一些用来研究膜泡转运的分子机制的基本的遗传学和生物化学方法总结在专题 13-1。

专题 13-1　研究囊泡运输的分子机制的方法

研究囊泡运输的成分和机制的无细胞系统

囊泡运输可以在无细胞系统中重建。这首先在高尔基体片层中取得了成功。从细胞中分离出高尔基体片层与胞质溶胶和 ATP 一起温育，由 ATP 提供能量，可观察到囊泡从高尔基体边缘出芽并在膜囊之间转运蛋白质。通过对从高尔基体一个区域转运到另一个区域的糖蛋白上寡糖的跟踪，就可以追踪囊泡运输的过程。

为了追踪这一过程，把两种不同的高尔基体片层共同温育。供体高尔基体是从突变细胞中分离出来的缺乏 *N*-乙酰葡糖氨（GlcNAc）转移酶 I 的突变细胞中分离出来的，并且这些细胞感染了病毒；由于突变的原因，主要的病毒糖蛋白不能被突变细胞高尔基体中的 GlcNAc 修饰。受体高尔基体是从没有感染的野生型细胞中分离出来的，GlcNAc 转移酶I是完好的、但是没有病毒糖蛋白。在这种高尔基体片层的混合物中，病毒糖蛋白获得了 GlcNAc 修饰表明蛋白质一定是在两种高尔基体片层间进行了转运，可能是通过从供体高尔基体顺面膜囊出芽并与受体高尔基体的中间膜囊融合的囊泡的运输。这种依赖于转运的糖基化是通过检测到 UDP-^{3}H-GlcNAc 中的^{3}H-GlcNAc 转移到病毒糖蛋白而监测的。这种转移只有在加入胞质溶胶和 ATP 时才能发生。通过对胞质溶胶的组分分析已经鉴定出了许多囊泡出芽和融合所需的特异的胞质蛋白。



相似的无细胞系统也已经被用来研究从高尔基体中间膜囊到反面膜囊的转运，从高尔基体反面膜囊导质膜的转运，从胞内体到溶酶体的转运和从高尔基体反面膜囊到晚期胞内体的转运。

研究囊泡运输的遗传学方法

对高温下有分泌缺陷的酵母突变细胞的遗传学研究已经鉴定了涉及分泌途径的 25 种以上的基因。很多突变基因编码温度敏感蛋白，这些蛋白质在 25℃是有正常的功能，但当突变细胞被转移到 35℃时，有一些细胞就不能把蛋白质从内质网转运到高尔基体，有一些不能在高尔基体膜囊之间转运蛋白质，而有一些不能把蛋白质从高尔基体转运到液泡（酵母的溶酶体）或者质膜。

只要用这种方法鉴定了一个分泌所需的蛋白质，我们就能够鉴定编码蛋白质的基因。在高温下温度敏感蛋白质与在正常情况下能相互作用的蛋白质的亲和性大大降低以至于不能结合其上。如果相互作用的蛋白质浓度相当高时两者还是能结合的。基于这个原因，一个涉及囊泡转运的基因发生温度敏感突变的酵母细胞被携带有随机克隆的酵母基因组的片段的酵母质粒载体转染，因为质粒在细胞中是多拷贝的，那些带有完整基因的质粒将会产生过量的正常基因产物使得极少量的细胞能在高温下存活下来。那些可能编码与原来突变的蛋白质相互作用的蛋白质的相关的 DNA 片段就能从存活的细胞中分离出来。

遗传学和生化方法相互补充，许多涉及囊泡运输的蛋白质已经通过独立的利用哺乳动物无细胞系统的生化方法和利用酵母的遗传学方法得到鉴定。

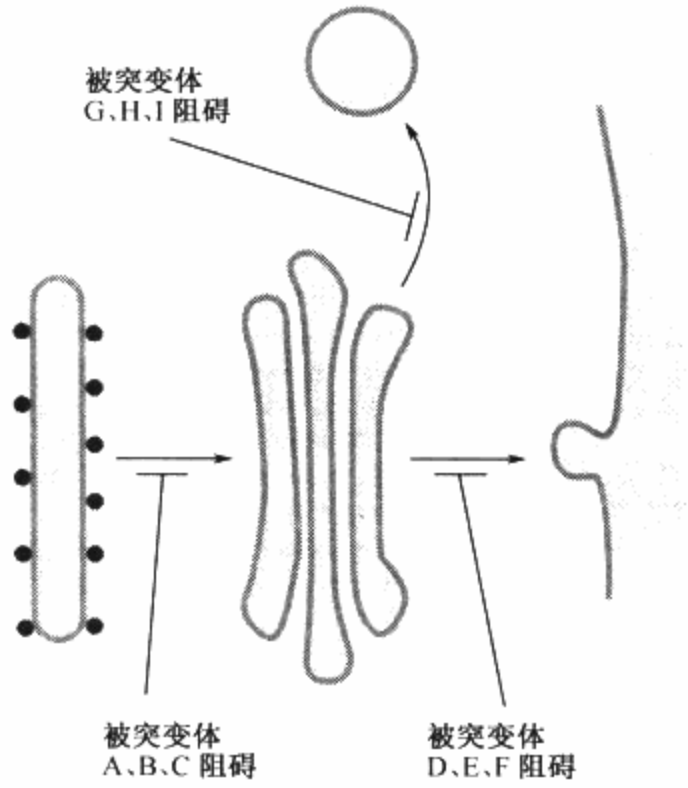
GFP 融合蛋白开创了细胞间运输研究方法的革命

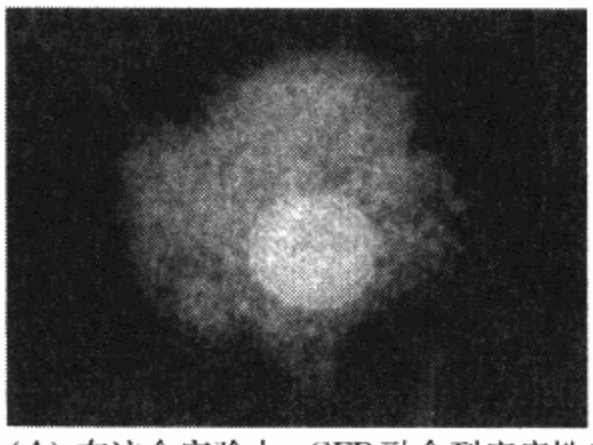
跟踪活细胞中蛋白质去向的一个方法是构建融合蛋白，把绿色荧光蛋白（GFP）通过遗传学方法结合到感兴趣的蛋白质上。当编码融合蛋白的 cDNA 在细胞中表达时，可以在荧光显微镜下看到这个蛋白质，因此可以对活细胞中的蛋白质进行实时跟踪。幸运的是，对大多数研究的蛋白质来说，GFP 的加入并不影响蛋白质的功能。

GFP 融合蛋白已经被广泛地用来研究细胞中蛋白质的位置和运动。例如，GFP 融合到穿梭细胞核的蛋

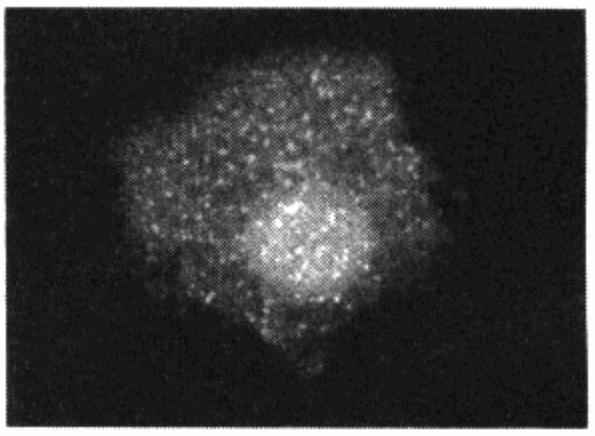
白质上可以用来研究和转运实践及其调控。GFP 融合到线粒体或高尔基体的蛋白质上可以用来研究这些细胞器的行为。GFP 融合到质膜蛋白上可以检测从内质网开始经历分泌途径的蛋白质运动的动力学。

GFP 融合蛋白研究通常和 FRAP 和 FLIP 相结合（讨论见第 10 章）。在实验中用激光束对细胞受选区域进行照射处理，该区域 GFP 荧光淬灭而形成漂白斑。为漂白的 GFP 融合蛋白扩散到该区域的扩散速率可以为蛋白质在细胞中的融合运输提供量度。例如，用这种方法已经确定在高尔基体和内质网之间存在许多循环利用的酶。

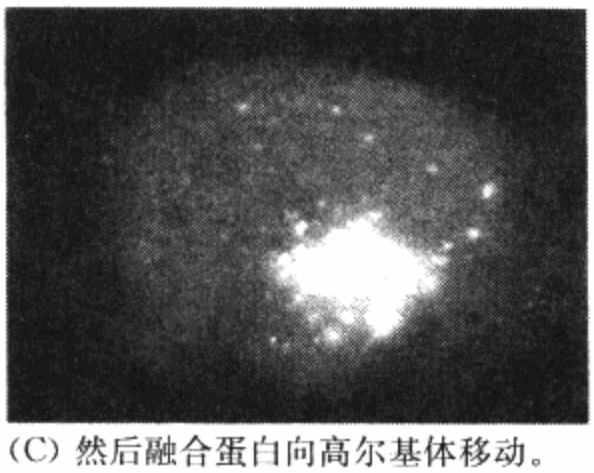




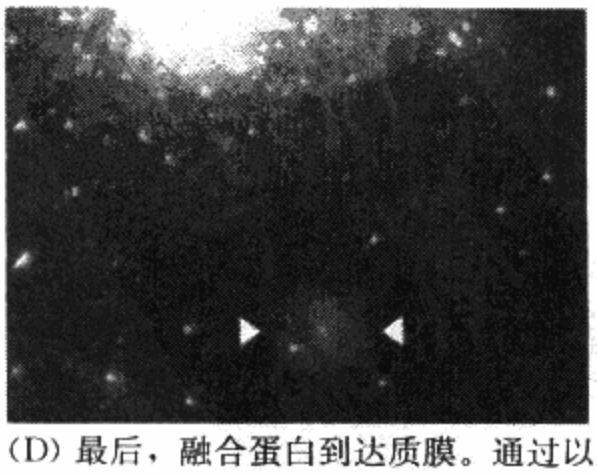
(A) 在这个实验中，GFP 融合到疱疹性口腔炎胞膜蛋白上并在培养细胞中表达。冰毒蛋白是一个整合的膜蛋白，通常通过气势与内质网的分泌途径到达细胞表面，如果细胞也表达其他的病毒蛋白组分的话，病毒将在此装配。这个冰毒蛋白包含一个只允许在低温下从内质网进行运输的突变，因此，在所示的高温下，融合蛋白聚集在内质网中。



(B) 随着温度降低，GFP 融合蛋白迅速地聚集在内质网的出口区域。



(C) 然后融合蛋白向高尔基体移动。



(D) 最后，融合蛋白到达质膜。通过以上的研究可以确定途径中每一步的动力学。

（A～D 由 Jennifer Lippincott-Schwatz 实验室惠赠）

这一章我们从讨论使蛋白质分离到各自的不同膜区域的分选过程开始。这种分选过程取决于供体区室胞质面特异的蛋白质包被的装配。我们将探讨这些包被是怎样形成的，其组成成分是什么，它们是怎样使膜的特异组分脱离膜并转运到其他膜去的。最后将讨论转运泡是怎样驻足于合适的靶膜，与其融合并将内含物释放到其靶细胞器的。

存在各种类型的有被囊泡

大多数转运泡从膜的特异的，有包被的区域形成。它们以**有被囊泡**的形式出芽，形成胞质面有不同的蛋白质覆盖的笼状结构。在囊泡与其把膜融合前包被去掉，这是两个膜表面直接接触并融合所必需的。

胞被被认为执行两种基本的功能。首先，它将特异的膜蛋白集中于将产生囊泡膜的特异的膜区域，然后协助筛选合适的转运分子。其次，包膜蛋白装配成弯曲的、篮球状的格子使区域膜变形形成了囊泡，这也解释了为什么由相同包膜蛋白包被的囊泡大小基本相同。

目前发现了 3 种不同类型的有被囊泡，其包被蛋白不同：网格蛋白有被小泡、COPⅠ有被小泡和 COPⅡ有被小泡（图 13-4）。每一种都用于细胞中不同的转运步骤。例如，网格蛋白有被囊泡介导从高尔基体和从质膜的转运，而 COPⅠ有被小泡和 COPⅡ有被小泡通常介导内质网和高尔基体膜囊之间的转运（图 13-5）。其实，囊泡的多样性远比这些多得多。下面会谈到，至少有 3 种类型的网格蛋白有被囊泡，每一种介导不同的转运步骤，COPⅠ有被囊泡的多样性相似。此外在电镜下还看到了其他的包被蛋白，其分子组成和功能还不清楚。

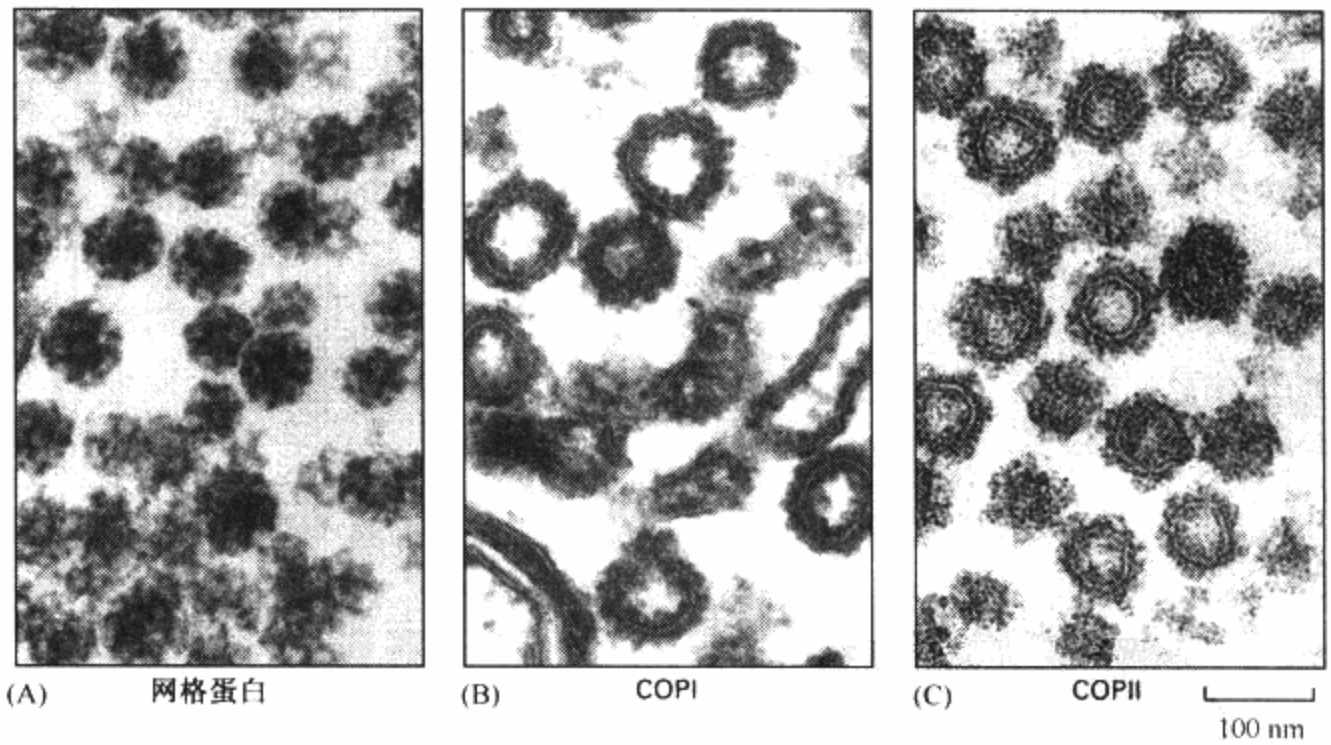


图 13-4　网格蛋白有被囊泡、COPⅠ有被囊泡和 COPⅡ有被囊泡的电镜图

（A）网格蛋白有被囊泡。（B）无细胞系统中的高尔基体膜囊，在测试的试管中有 COPI有被囊泡出芽（C）COPII有被囊泡。值得指出的是由网格蛋白包被的囊泡结构更加规则［（A）和（B）由 Lelio Orci 惠赠。来源于 L. Orci, B. Glick, and J. Rothman, *Cell* 46: 171～184, 1986. © Elsevier；（C）由 Charles Barlowe 和由 Lelio Orci 惠赠］

网格蛋白的装配驱动囊泡的形成

网格蛋白有被囊泡是第一个被发现的有被囊泡，研究的也最透彻。它们是囊泡形成的很好的例子。

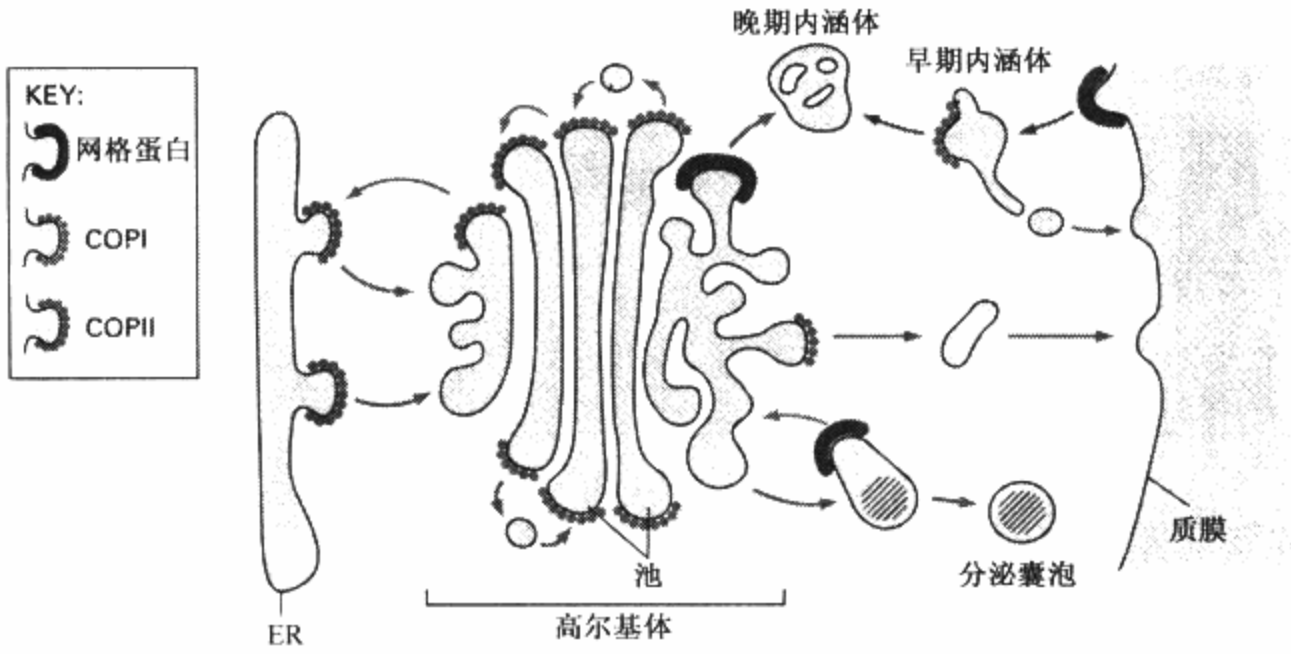


图 13-5　囊泡转运过程中不同的包被蛋白的利用

不同的包被蛋白选择不同的转运物并形成转运泡调节生物合成分泌和胞吞途径中的不同步骤。当相同的包被蛋白在细胞中的不同地方起作用时，它们能够结合不同的包被蛋白亚基以调节不同的特性（没有显示在图中）。许多分化的细胞还有许多除图中所示外的另外的途径，包括极性细胞中从反面高尔基体网状结构到细胞顶端的分选途径以及神经元突触中神经元囊泡中的蛋白质的特异的循环途径

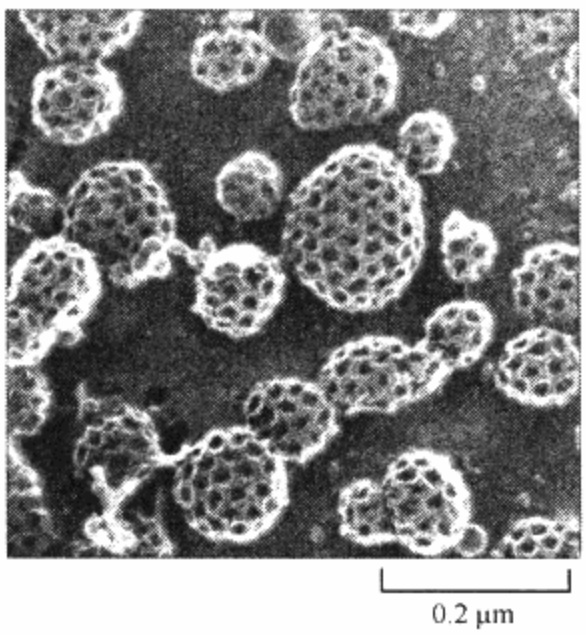


图 13-6　网格蛋白有被小窝和小泡

快速冷冻深度蚀刻电镜图显示了许多在培养的纤维原细胞质膜的内表面的网格蛋白包被的小窝和小泡。细胞在液氮中迅速冷冻，断裂并进行深度蚀刻以暴露质膜的胞质面（摘自 J. Heuser, *J. Cell Biol.* 84: 560～583, 1980. ©The Rockefeller University Press）

网格蛋白有被囊泡的主要蛋白质组分是网格蛋白本身。每一个网格蛋白亚基由 3 条重链和 3 条轻链组成，它们组合在一起形成称为三角蛋白质复合物的三脚架结构。三角蛋白质复合物装配成篮球状凸起的六边形或五边形结构骨架，在膜的胞质面形成有被小窝（图 13-6）。在合适的条件下，试管中分离的三角蛋白质复合物即使在没有这些篮球状结构通常包被的囊泡的情况下，也能够自我装配成典型的多面体笼状结构（图 13-7）。因此，网格蛋白笼状结构的几何外形是由网格蛋白三角蛋白质复合物单独决定的。

网格蛋白有被囊泡中另一重要的包被蛋白是一个叫做结合素蛋白的多亚基复合物。它既要将网格蛋白结合到膜上，又需要结合各种跨膜蛋白，包括所谓的转运物受体，即能捕获可溶性转运物的跨膜受体。一系列被选择的膜蛋白和与其相互作用的可溶性的蛋白质通过这种方式被包装进新合成的网格蛋白转运囊泡中（图 13-8）。

至少有 4 种转运分子受体，每一种都结合不同的转运分子受体。利用不同的结合素蛋白的网格蛋白有被囊泡从不同的膜区域出芽，因此包装不同的转运物及其受体。膜胞质面的结合素蛋白和网格蛋白的连续装配产生的力驱动网格蛋白有被小窝的形成。结合素蛋白之间和网格蛋白之间的横向相互作用也有助于小窝的形成。

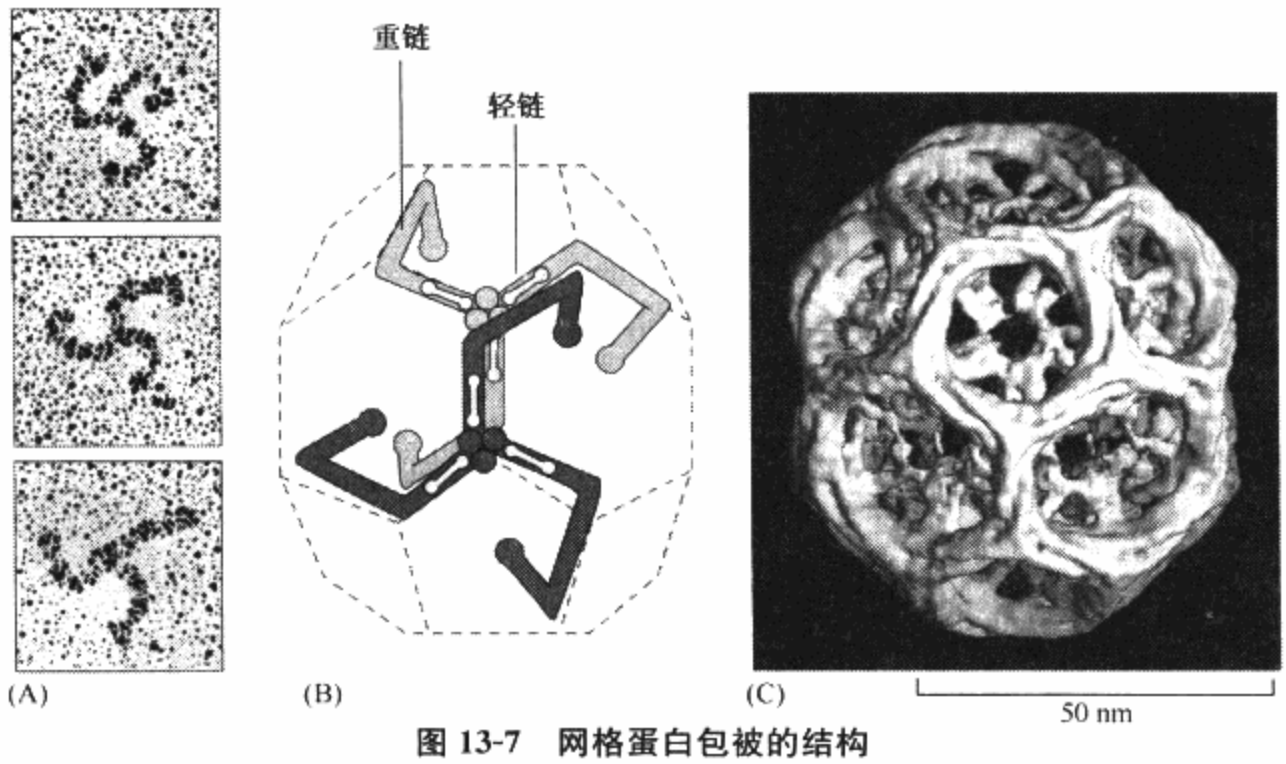


图 13-7　网格蛋白包被的结构

(A) 铂染色的网格蛋白的三角蛋白复合物电镜图。每一个三角蛋白复合物由 3 条重链和 3 条轻链组成，但这个特征在电镜下看不出来。(B) 包被于网格蛋白有被囊泡胞质面的三角蛋白复合物的可能的构造。三角蛋白复合物可动臂的这种部分重叠结构提供了蛋白质的机械力和柔韧性。值得指出的是，它的每一条腿的的末端都向里弯曲，它的 N 端结构域因此而形成一个中介网架结构。(C) 网格蛋白衣被的冰冻电子显微照片，这是一个由 36 个三角蛋白复合体组成的具有 12 个五角形和 6 个六角形的网络结构。网格蛋白三角复合体的交织臂形成一个外层网架，三角蛋白复合体的 N 端结构域凸出形成一个具有开口的可见层。这一内层与下一幅图所示的衔接蛋白接触。尽管图中所示衣被太小，不能包裹一个膜泡，但是附在囊泡上的网架蛋白衣被可通过相同的方式形成一个类似于英式足球的、具有 12 个五角形和大量六角形的复杂结构。(A，引自 E. Ungewickell and D. Branton，*Nature* 289：420—422，1981；B，引自 I. S. Nathke et al.，*Cell* 68：899—910，1992；C，引自 C. J. Smith et al.，*EMBO J.* 17：4943—4953，1998)

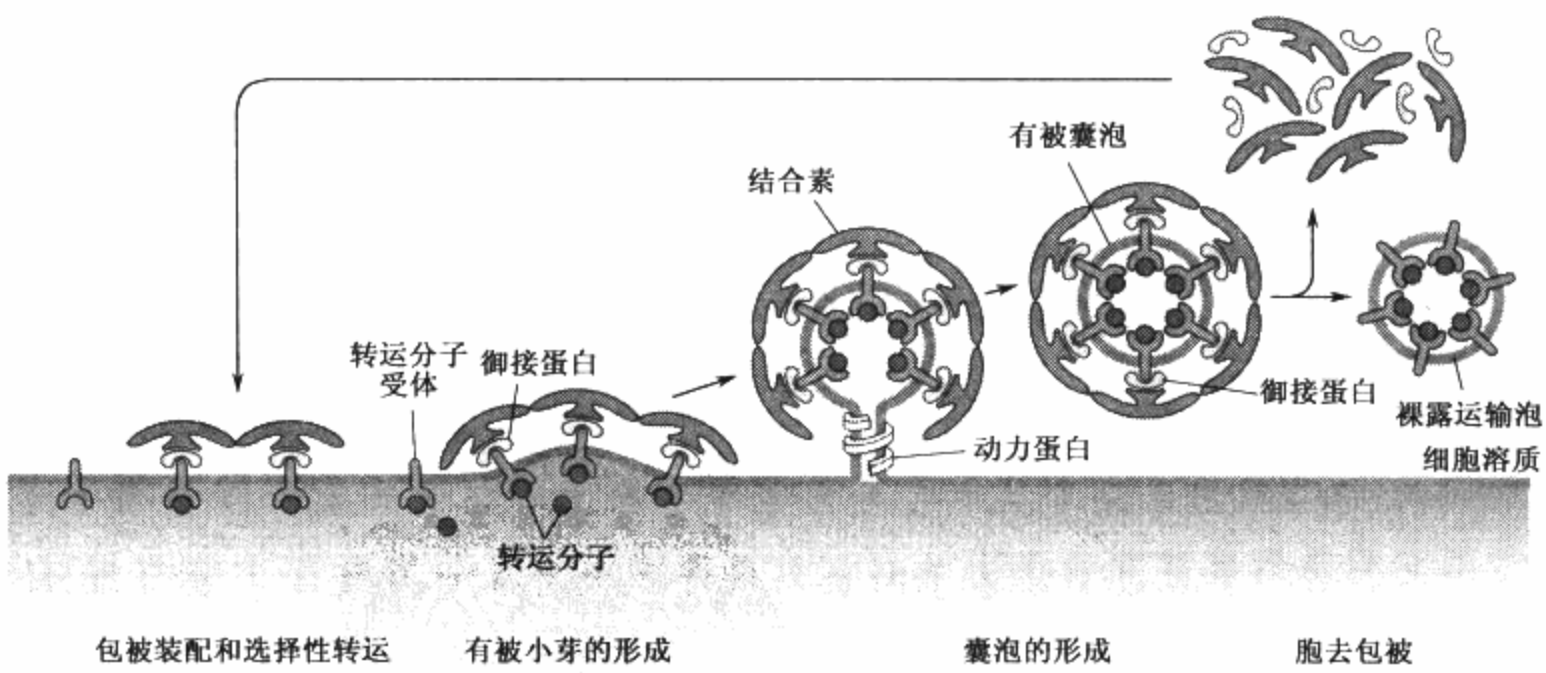


图 13-8　网格蛋白包被的装配与去装配

一般认为包被的装配是在膜上引入弯曲导致统一形状的有被小芽的形成。结合素蛋白既和网格蛋白的三角蛋白复合物结合，又和结合于膜上的转运分子受体结合，因此选择性调节膜组分和转运分子进入囊泡。有被小窝从膜上脱离形成小泡的过程涉及膜融合，这是在 GTP 结合的动力蛋白 (dynamin) 的帮助下完成的。GTP 结合的动力蛋白在有被小窝的颈部组成装配。被网格蛋白包被的囊泡的包被在囊泡形成后不久很快脱去

有被囊泡脱离质膜和去包被都是受调节的过程

随着网格蛋白包被的芽的生长，一些可溶性的细胞质蛋白，包括**动力蛋白** (dynamin)，

在有被小窝的颈部装配成环。动力蛋白是一个 GTPase，调节囊泡脱离膜的速度。在脱离过程中，非胞质侧的膜两侧靠得非常近，然后融合，把形成的囊泡封起来（图 13-9）。为了完成这一过程动力蛋白招募其他的蛋白质到有被小窝的颈部，通过直接扭曲局部的脂双层结构或者改变膜脂构成来帮助其弯曲膜，或者两者兼而有之。局部膜脂构成的改变可能是招募到动力蛋白复合物中的脂质修饰酶作用的结果。

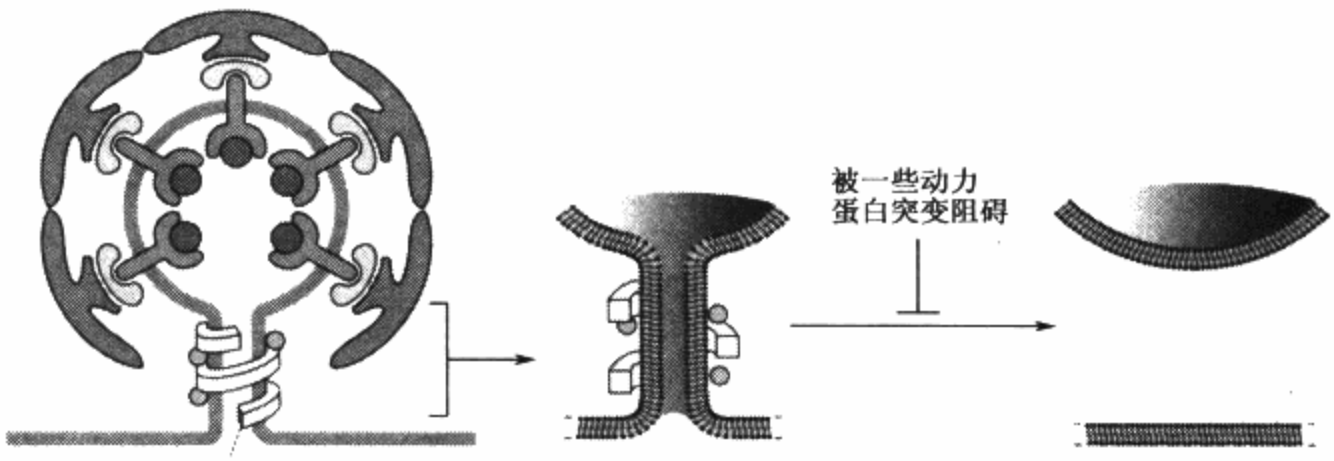


图 13-9　动力蛋白在网格蛋白包被的囊泡从膜上脱离过程中的作用

（A）动力蛋白结合到膜上形成的有被小窝上并在其颈部装配成环状结构。动力蛋白环被认为是招募其他蛋白质到囊泡颈部的模板，这些被招募的蛋白质与动力蛋白相互作用使膜变得不稳定，膜非胞质面小叶的脂双层融合在一起，于是新形成的囊泡从膜上脱离。动力蛋白的特异突变可以加速或者阻碍脱离过程。（B）动力蛋白突变是在果蝇的 shibire 突变的蛋白质缺陷中发现的。这些突变的果蝇变成了残疾因为网格蛋白调节的胞吞过程停止了，结合的囊泡膜不能够被重新利用，阻碍了神经信号的传递。在果蝇的神经细胞中形成深度内陷的网格蛋白包被的小窝，在其颈部有一环状结构，如电镜下这一薄层部分所示，这被认为是动力蛋白突变了。由于膜不能发生融合，囊泡形成过程因此中断［（B）摘自 J. H. Koenig and K. Ikeda, *J. Neurosci.* 9：3844～3860，1989. © Society of Neuroscience.］

一旦囊泡从膜上释放，会迅速失去网格蛋白包被。一个 hsp70 家族的分子伴侣蛋白执行去包被的 ATPase 的功能，利用水解 ATP 的能量去除包被。另一个叫做 auxillin 的蛋白质，附着到囊泡上，被认为能激活 ATPase。因为包被蛋白在芽上的时间比囊泡上的时间要长，因此一定存在另外的控制机制阻止包被蛋白在形成囊泡前被去除（下面将会讨论）。

尽管细胞内不同区域之间在囊泡形成方面有很多相似性，每一种膜都面对特殊的挑战。如质膜，由于胆固醇含量比较高并且其下的细胞骨架的原因，相对来说比较平，比较硬。因此，网格蛋白必须产生相当大的力才能在膜上引入弯曲，尤其在有被小窝的颈部，动力蛋白及其相关蛋白质帮助囊泡脱离需要的大弯曲形成的地方。相反，细胞内的膜上囊泡的形成经常发生在膜已经弯曲的地方，如高尔基体膜囊的嵴部或者是膜的管状部分。

COP Ⅰ有被囊泡和 COP Ⅱ有被囊泡转运分泌途径早期的物质：COPⅡ包被蛋白从内质网

的表面起始装配，COPⅠ包被蛋白从高尔基体前的房室和高尔基体膜囊起始装配（图 13-5）。COPⅠ和 COPⅡ囊泡的包被是由大的蛋白复合物组成的，COPⅠ包被由 7 个蛋白质亚基组成，COPⅡ由 4 个蛋白质亚基组成。一些 COPⅠ包被蛋白亚基和结合素蛋白有序列相似性，表明可能有共同的进化起源。

不是所有的转运囊泡都是球形的

转运泡有不同的形状和大小。用遗传学方法使活细胞表达带荧光的膜组分，在显微镜下观察胞内体和反面高尔基体网状结构连续的发出长管状结构，包被蛋白在管上装配帮助招募特异的转运分子。这些管状物或者缩回或者在动力蛋白样蛋白质的帮助下从膜上脱离用作运输泡。依赖于膜管状化及其断裂的效率，供体细胞器上不同形状的部分可以脱离出膜。

管状物的面积/体积的比率比形成它们的细胞器要高很多，因此与可溶性转运蛋白相比，它们中膜蛋白的比例相对要高。下面我们会讨论，管状物的这种特性被用来筛选胞内体重的蛋白质，因此囊泡转运不一定只通过大小一致的球形囊泡发生，也可以有供体细胞器的更大的部分参与。

单体 GTPase 控制被膜的装配

由网格蛋白包被的囊泡和 COPⅠ包被的囊泡着执行的囊泡运输依赖于许多 GTP 结合蛋白控制膜交换的时空特异性。如第 3 章所讨论过的，GTP 结合蛋白是一个调解细胞内不同的过程的大的蛋白质家族，这些蛋白质起分子开关的作用，结合 GTP 时处于活性状态，与 GDP 结合时处于非活性状态。两组蛋白质调节这种状态转变：鸟嘌呤核苷酸交换因子（GEF）通过催化 GDP 到 GTP 的交换活化蛋白质，而 GTPase 激活蛋白（GAP）通过引发 GTP 水解为 GDP 使蛋白质处于非活化状态（图 3-72）。尽管单体 GTP 结合蛋白和三聚体 GTP 结合蛋白（G 蛋白）在囊泡转运中都起了非常重要的作用，单体 GTP 结合蛋白的功能了解得更加清楚，我们主要将讨论集中于此。

为了确保运入和运出细胞器的膜组分的平衡，包被蛋白只能在需要它的合适的时间和地点装配。包被蛋白招募的单体 GTP 结合蛋白家族成员的 GTPase 被用来为此需要服务。这些蛋白质包括 **ARF 蛋白**，它们负责高尔基体膜上网格蛋白包被和 COPⅠ包被的装配，还有 **Sar1 蛋白**，负责 COPⅡ包被在内质网膜上的装配。目前认为网格蛋白包被在质膜上的装配也涉及到一种 GTPase，但是至今还未被鉴定出来。

与包被蛋白相互作用的 GTPase 在细胞质中通常以高浓度的非活性状态存在，即 GDP 结合的状态。当 COPⅡ包被的囊泡将从内质网上出芽形成时，镶嵌在内质网膜上的一个特异的 GEF 结合到 Sar1 蛋白，使其释放 GDP 而结合 GTP（GTP 在胞质中的浓度比 GDP 要高得多，因此在 GDP 被释放后将自动结合到蛋白质上）。处于 GTP 结合状态的 Sar1 暴露出一个脂肪酸末端插入内质网膜的磷脂双分子层中。这种 Sar1 蛋白的紧密结合招募包被蛋白亚基到内质网膜的表面以起始出芽（图 13-10）。其他 GEF 和与包被蛋白相互作用的 GTPase 在其他膜上以相似的机制起作用。

尽管相互作用很弱，许多包被蛋白还与一些脂类分子的头部相互作用，尤其是磷脂酸和磷酸肌醇，此外还与该小窝形成区的许多膜蛋白的胞质尾部作用。该小窝形成区被激活的与包被蛋白相互作用的 GTPase 能够在此区域局部激活磷脂酶 D，将磷脂转变成磷脂酸，因此增强了包被蛋白的结合。总之，这些蛋白质-蛋白质和蛋白质-磷脂相互作用使包被蛋白紧紧地结合到膜上，使得膜变形形成了小窝，然后从膜上脱离形成有被小泡。

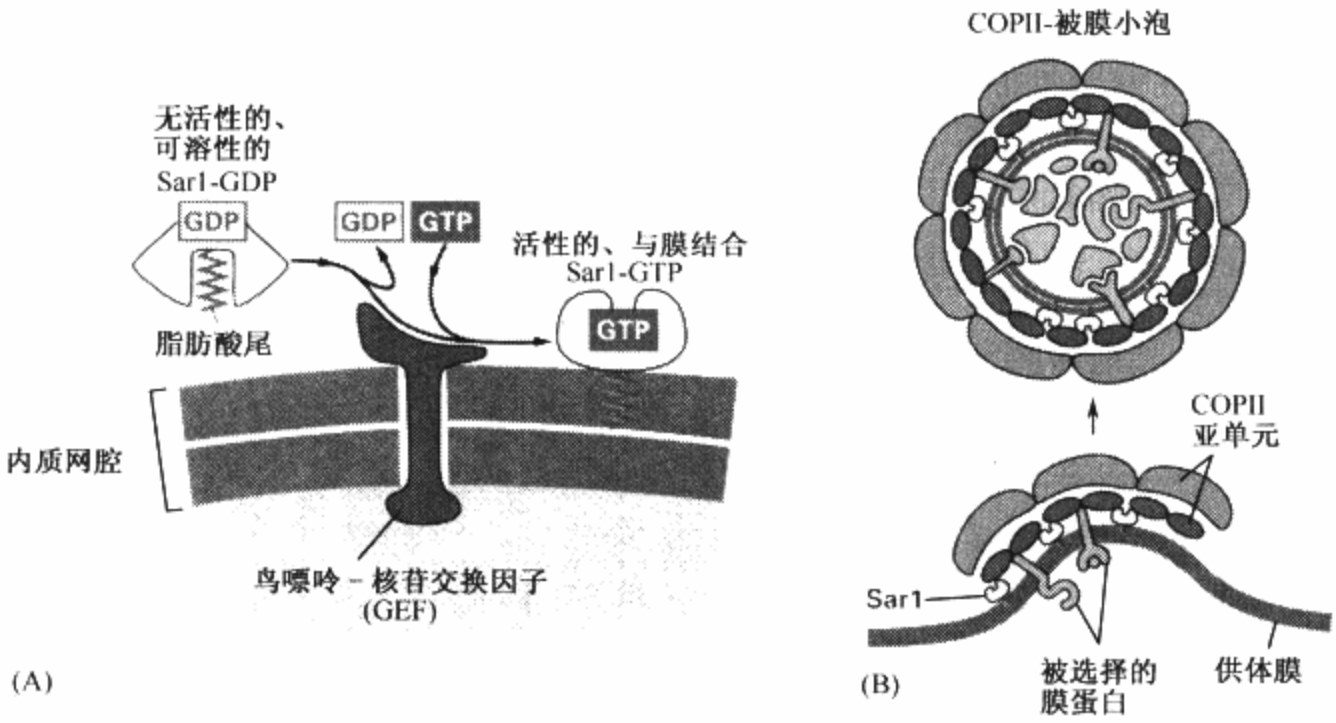


图 13-10　COPⅡ有被小泡形成的模型

(A) Sar1 蛋白是一个与包被蛋白相互作用的 GTPase，可溶性的 Sar1-GDP 与内质网膜上的一个 GEF 结合（称为 Sel2），使 Sar1 释放 GDP 而结合 GTP。GTP 引发的构象改变使得 Sar1 暴露出它的脂肪酸末端并插入内质网膜的磷脂双分子层中。(B) 与膜结合的，处于活化态的 Sar1-GTP 招募 COPⅡ蛋白亚基到膜上，使得膜出芽，随后膜融合释放有被小泡。其他有被小泡的形成与此类似

与包被蛋白相互作用的 GTPase 对包被蛋白的去装配也有作用。GTP 水解成 GDP 使 GTPase 构型改变，它的脂肪酸尾巴因此从膜上脱离导致囊泡的包被蛋白去装配。尽管目前还不清楚是什么引发了 ATP 的水解，但是有人提出 GTPase 就像一个计时器，以一个很慢的但是可预测的速度水解 GTP。例如，COPⅡ包被加速 Sar1 蛋白上 GTP 的水解，因此在包被开始装配一定时间后就引发包被蛋白的去装配。因此，只有当有被小窝的形成过程必有时间限制的去装配过程，快时才能形成完整的有被囊泡；另外，包被的去装配在囊泡脱离膜之前就已经被引发了，并且在合适的时间和地点也将再次被引发。包被的包装完成或者与靶膜的接触都可能引发去装配。

SNARE 蛋白和靶 GTPase 指导膜泡转运

为了保证膜泡运输过程的有序性，运输泡必须高度选择性的识别正确的靶膜并与之融合。由于膜系统的多样性，一个囊泡在找到正确的靶膜前可能会碰到许多可能的靶膜。运输泡表面的分子标记及其与靶膜上互补的受体的特异识别保证了寻靶的特异性，这些分子标记依转运物分子的起源和类型的不同而不同。这一关键的识别步骤被认为主要是由两种蛋白质来控制的：SNARE 和称为 Rab 的靶 GTPase。SNARE 在特异性识别和催化囊泡与靶膜的融合方面都起着中心作用。Rab 可能与其他蛋白质一起调节膜泡的起始锚定和与靶膜的融合。

在动物细胞中至少有 20 种不同的 **SNARE**，每一种都和生物合成分泌或胞吞途径中涉及的一种特定的膜包被的细胞器有关。这些跨膜蛋白是以互补的形式存在的囊泡膜 SNARE，又称 **v-SNARE** 和靶膜 SNARE，又称 **t-SNARE**（图 13-11 和图 13-12）。v-SNARE 和 t-SNARE都有特征性的螺旋区。当一个 v-SNARE 和一个 t-SNARE 相互作用时，其中一个螺旋绕另一个的螺旋缠绕形成稳定的反式-SNARE 复合物，把两种膜锁在了一起。我们后面将会讨论反式-SNARE 复合物是怎样作用与膜融合的。SNARE 相互作用的特异性决定了膜泡

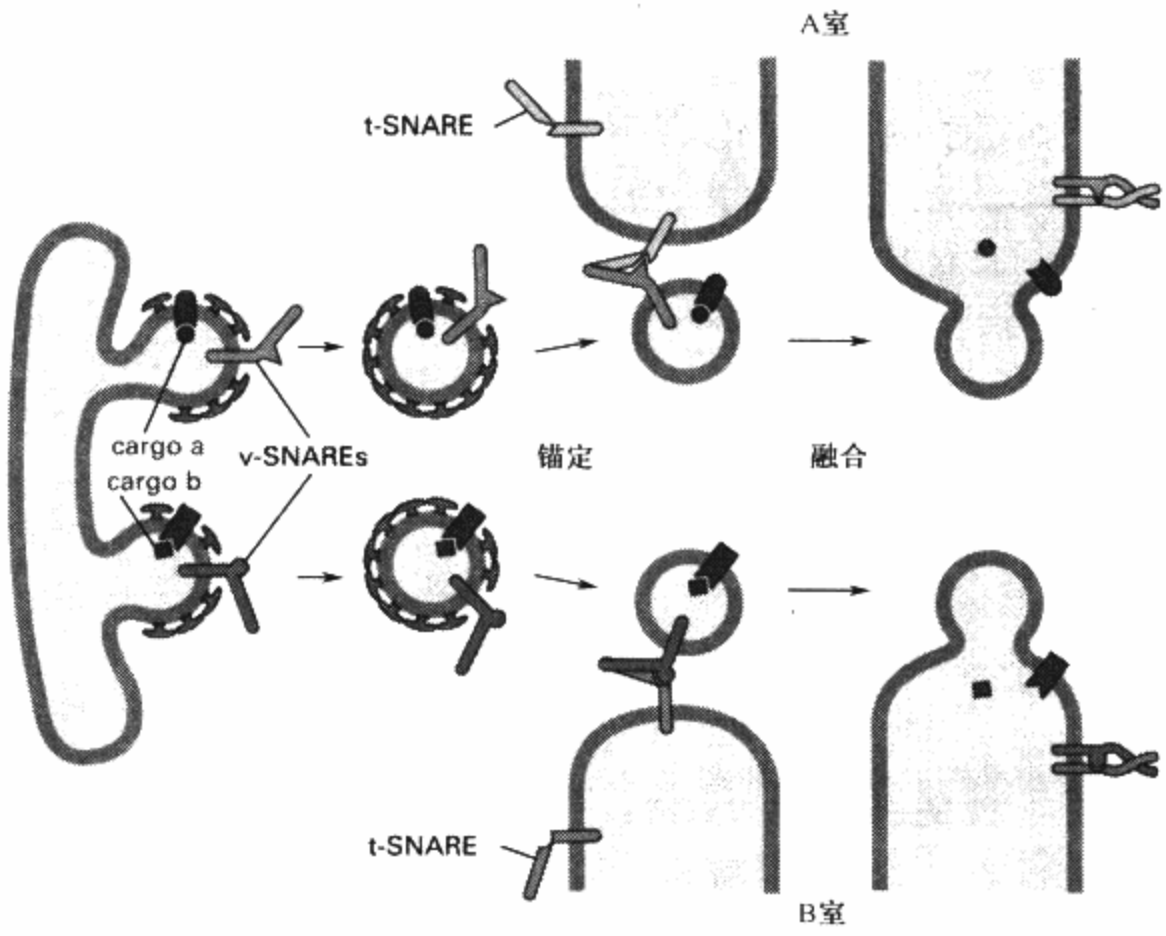


图 13-11　设想的 SNARE 在指导膜泡运输上的作用

囊泡膜 SNARE（v-SNARE）和靶膜 SNARE（t-SNARE）的互补作用决定了膜泡锚定和融合的特异性。在运输泡从供体膜上出芽时，v-SNARE 和包被蛋白结合在一起，然后结合到靶膜的互补的 t-SNARE 上。膜泡融合后，v-SNARE和 t-SNARE 仍然以紧密地结合在一起。两者形成的复合物在 t-SNARE 接受新的膜泡之前解聚，v-SNARE 回到供体膜区域重新利用，参与下一轮膜泡运输。如图所示，当离开不同的供体模时，不同的 v-SNARE 与不同的转运物一起包装（通过与其他蛋白的作用；在此没有画出）。因此，不同的转运物将被运输到不同的 t-SNARE，到达不同的靶膜

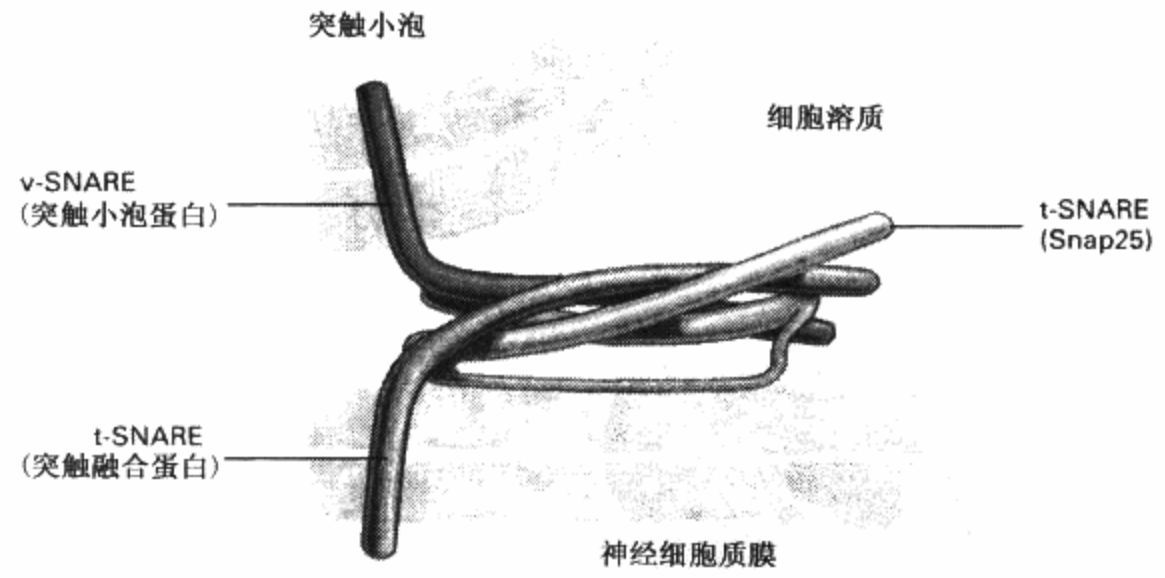


图 13-12　成对的 SNARE 的结构

负责突触小泡在神经原突触前质膜上锚定的 SNARE 由 3 个蛋白质构成。v-SNARE synaptobrevin 和 t-SNARE syntaxin 都是跨膜蛋白并各自为复合物的形成提供一个 α 螺旋。t-SNARE *Snap25* 是一个外周膜蛋白，提供两个 α 螺旋形成一个四螺旋束。反式-SNARE 复合物通常是有 4 个紧密缠绕的螺旋构成的，3 个由 t-SNARE 提供，一个由v-SNARE提供。t-SNARE时有多条多肽链构成的，其中一条是跨膜蛋白，为四螺旋束提供一个 α 螺旋，另外的一条或两条可能是也可能不是跨膜蛋白的轻链为四螺旋束提供另外的两个 α 螺旋。这些蛋白质的 4 个紧密缠绕的螺旋构成的螺旋束的稳定的晶体结构模型如图。简化起见，螺旋以棒示（节选自 R. B. Sutton et al.，*Nature* 395：347～353，1998）

锚定和融合的特异性。SNARE 用这种方式决定区室类型的特异性并指导囊泡运输过程中物质的有序转运。

神经细胞中的 SNARE 研究的比较透彻，在神经细胞中它们调节突触小泡在神经原突触前质膜上的锚定和融合。位于神经末梢上的 SNARE 复合物是许多细菌分泌的能导致破伤风和肉毒中毒的毒性很强的神经毒素的靶标。这些毒素都是高度特异的蛋白酶，能进入特定的神经元，降解神经末梢中的 SNARE 蛋白，因此阻碍了突触的信息传递，这通常是致命的。

相互作用的 SNARE 在重新行使功能前需要被掰开

细胞中大多数 SNARE 蛋白参与多轮的靶膜找寻，有时候在膜上和一到两种对应的 SNARE 以稳定的复合物的形式存在（图 13-11）。这些复合物必须解离才能调节新一轮的膜泡运输。一个关键的叫做 **NSF** 的蛋白质往返与膜和胞质溶胶之间，调节这一解离过程。它是一个 ATPase，结构上类似于一个小的细胞质分子伴侣家族的蛋白质，通过 ATP 水解提供的能量使变性蛋白溶解并重新折叠。与此类似，NSF 利用几个接头蛋白结合到 SNARE 上，水解 ATP 拆开 SNARE 蛋白的螺旋之间的相互作用（图 13-13）。

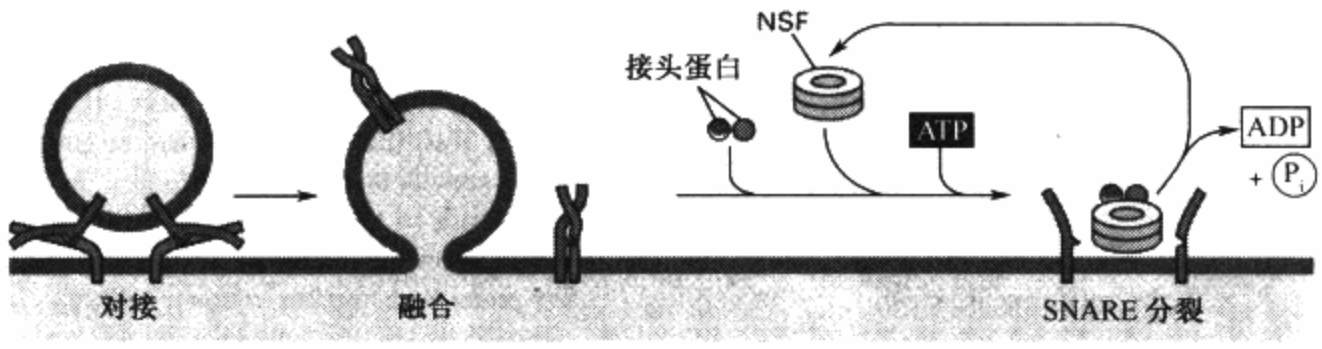


图 13-13　膜融合完成后 SNARE 对的解离

v-SNARE 和 t-SNARE 介导膜泡与特定的靶膜融合后，NSF 通过接头蛋白结合到 SNARE 复合物上，水解 ATP 使 SNARE 分开

SNARE 复合物的解离可以帮助我们理解为什么在细胞中各种膜之间不会不加区别地融合。如果靶膜上的 t-SNARE 总是处于活性状态，那么只要和携带合适的 v-SNARE 的膜一接触就会发生融合。NSF 调节的 SNARE 的重新活化使细胞能对膜融合的时间和地点进行控制。除此之外，靶膜上的 t-SNARE 总是和抑制蛋白结合在一起，抑制蛋白在膜融合前必须释放。下面我们会讨论，这种抑制蛋白的释放是由靶 GTPase 控制的。

Rab 蛋白帮助确保膜泡锚定的特异性

Rab 蛋白在膜泡运输的特异性方面起着重要的作用。它们是单体 GTPase，目前已知 30 多种成员，是单体 GTPase 中最大的亚家族。像 SNARE 一样，每一种 Rab 蛋白在膜上都有其特征分布并且每一种细胞器在其胞质面都有至少一种 Rab 蛋白（表 13-1）。目前认为 Rab 蛋白促进并调节膜泡锚定的速率和膜融合所需的 v-SNARE 和 t-SNARE 的匹配。

像前面讨论的与包被蛋白相互作用的 GTPase 一样，Rab 蛋白往返与膜和胞质溶胶之间。它们与 GDP 结合时处于非活性状态，处于胞质中，结合 GTP 时被激活并与细胞器的膜和运输泡结合（图 13-14）。许多运输泡只有在合适的 SNARE 和 Rab 蛋白存在于膜上时才能形成，以便锚定并与正确的膜融合。

表 13-1　部分 Rab 蛋白的亚细胞位置

蛋白质	细胞器
Rab1	内质网和高尔基复合体
Rab2	正面高尔基体网状结构
Rab3A	突触泡，分泌颗粒
Rab4	早期胞内体
Rab5A	质膜，有被囊泡
Rab5C	早期胞内体
Rab6	高尔基体中间池，反池
Rab7	晚期胞内体
Rab8	分泌泡
Rab9	晚期胞内体，反面高尔基体网状结构

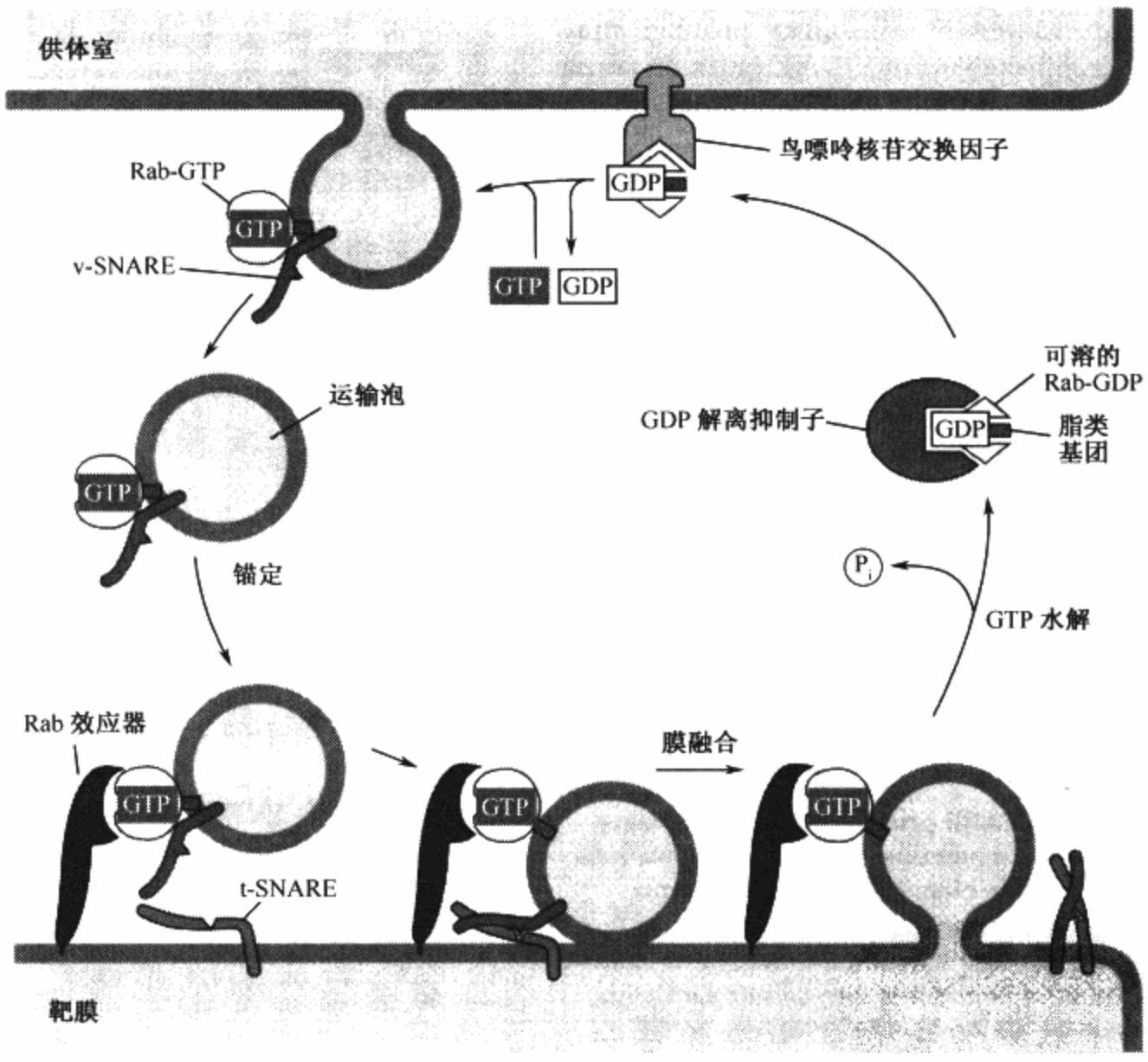


图 13-14　设想的 Rab 蛋白在促进膜泡锚定中的作用

供体膜上的一个 GEF 识别一个特异的 Rab 蛋白并诱导释放 GDP 结合 GTP。GTP 的结合改变了 Rab 蛋白的构型使其暴露出与膜共价结合的脂类基团帮助其锚定到膜上。尽管涉及的 GEF 不同，这是我们想起了与包被蛋白相互作用的 GTPase帮助包被蛋白结合的膜上的相似的机制（图 13-10）。Rab -GTP 在运输泡脱离供体膜后仍结合在其表面，然后它会和位于靶膜上的不同的 Rab 效应蛋白结合。Rab 及其效应蛋白帮助 v-SNARE 和 t-SNARE 的配对并将膜泡锚定在靶膜上。在膜泡融合后，Rab 蛋白水解 GTP，失活的蛋白质返回胞质参与另一轮循环。如图所示，细胞质中的 Rab-GDP 与 GDP 解离的抑制子（GDI）相结合，阻止 Rab 在与供体膜上合适的蛋白质结合前释放 GDP。为清楚起见，在此省略了膜泡上的包被蛋白等（图 13-10）

Rab 蛋白 C 端的氨基酸序列相差很大。末端交换实验表明是其末端决定了每一个家族成员在细胞内的定位，推测是通过结合到不同细胞器表面的互补蛋白质而实现的，包括 GEF。一旦蛋白质处于结合 GTP 的活性状态并利用其脂类结合到膜上，它就能够结合其他的蛋白质（称为 Rab 效应蛋白）促进锚定过程。

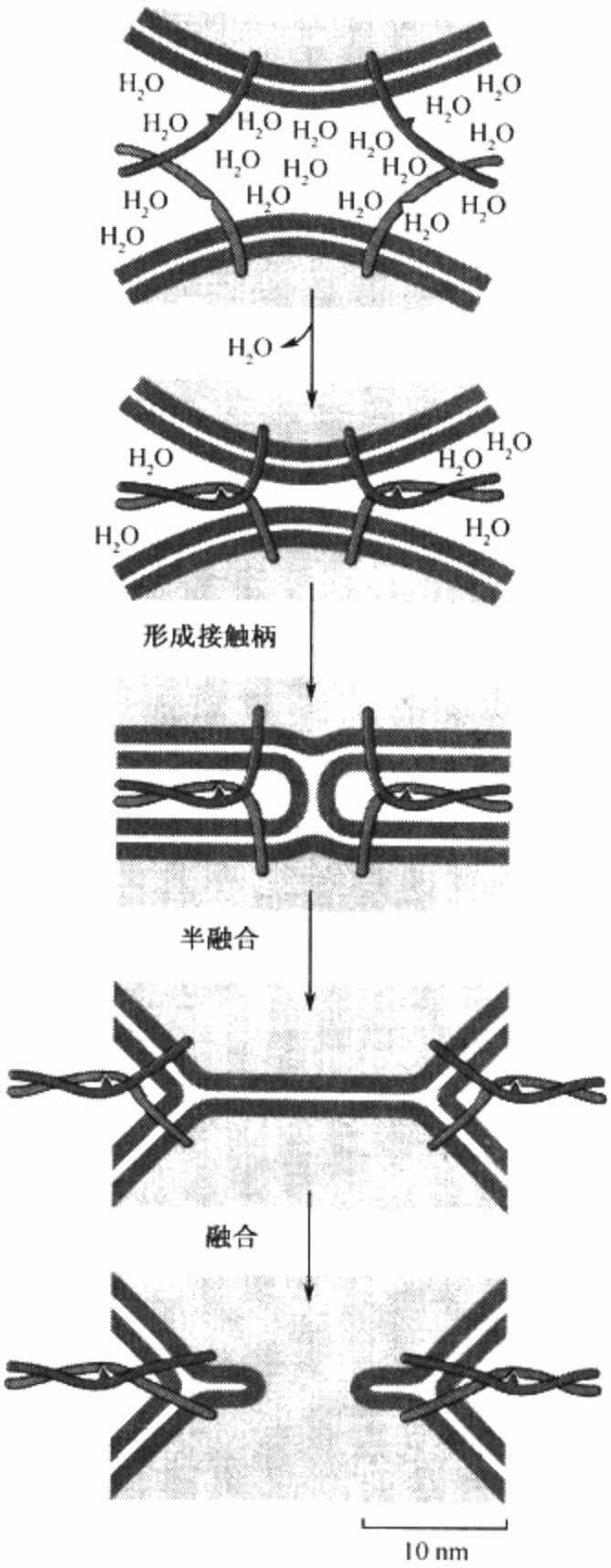


图 13-15　SNARE 蛋白在膜融合中如何聚集在一起的一个模型

膜融合的发生经历多个步骤。一个紧密结合的 SNARE 对使得脂双层靠的很近，水分子被从中间排开。两个相互接触的小叶的脂质在膜之间流动形成了一个接触柄。其余的两个不接触的小叶的脂质互相接触形成了一个新的脂双层，扩大了融合区的面积（半融合）。然后这两个小叶形成新的脂双层，融合完成

与 Rab 蛋白高度保守的结构相反，不同的 **Rab** 效应蛋白的结构变化很大。例如，一种 Rab 效应蛋白是一个大的蛋白质复合物，直到胞吐作用的膜泡到达细胞膜上的特异位置。尽管互补的 t-SNARE 均一地分布在膜上，膜泡融合只限制在这种复合物所在之处。许多 Rab 效应蛋白是长的，细丝状的类似绳索的蛋白质，限制膜泡在邻近的高尔基体膜囊间的运动。还有许多 Rab 效应蛋白结合到 Rab-GTP 的活性状态，阻止 GTP 提前水解。还有的 Rab 效应蛋白是驱动膜泡沿着肌动蛋白纤维或微管运动以到达合适的靶膜的马达蛋白。

尽管 Rab 及其效应蛋白之间利用多种多样作用机制来影响膜泡的运输，但是它们的功能是一样的。它们帮助膜泡聚集在靶膜附近并引发 SNARE 控制蛋白质的释放。Rab 用这种方式加速了两种膜上 SNARE 的识别过程。有的 Rab 蛋白在膜泡上起作用，有的在靶膜上起作用。v-SNARE 和 t-SNARE 的配对将膜泡锚定在靶膜上以利于融合，下面我们会详述这个过程。Rab 蛋白在膜泡融合后水解 GTP，失活的蛋白质返回胞质参与另一轮循环。

SNARE 可以调节膜融合

一旦转运泡识别了其靶膜并锚定在那儿，它将通过膜融合来卸下转运物。然而，膜融合不总会立刻发生。后面我们会讨论，在调节型胞吐作用过程中，膜融合在收到细胞外特异的信号引发时才能发生。

锚定和融合是两个不同的、相互分离的过程。锚定只需要两种膜靠的足够近以使脂双层表面突出的蛋白质能相互作用并结合在一起。融合需要使脂双层的距离在 1.5nm 之内然后才能结合到一块。当两种膜的距离达到这么近时，脂双层上的脂质就可以彼此流动了。这么近的距离，水就必须被从膜的亲水面上排开，这是一个能量上高度不利的过程。细胞内所有的膜融合好像都是由能提供能越过这种能量障碍的特异的酶催化的。前面我们已经讨论过

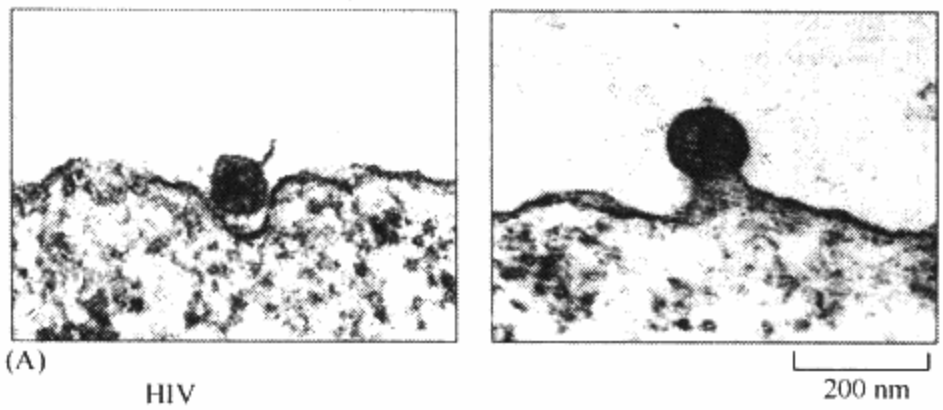
动力蛋白在网格蛋白有被小窝出芽过程中的与此类似的作用了。

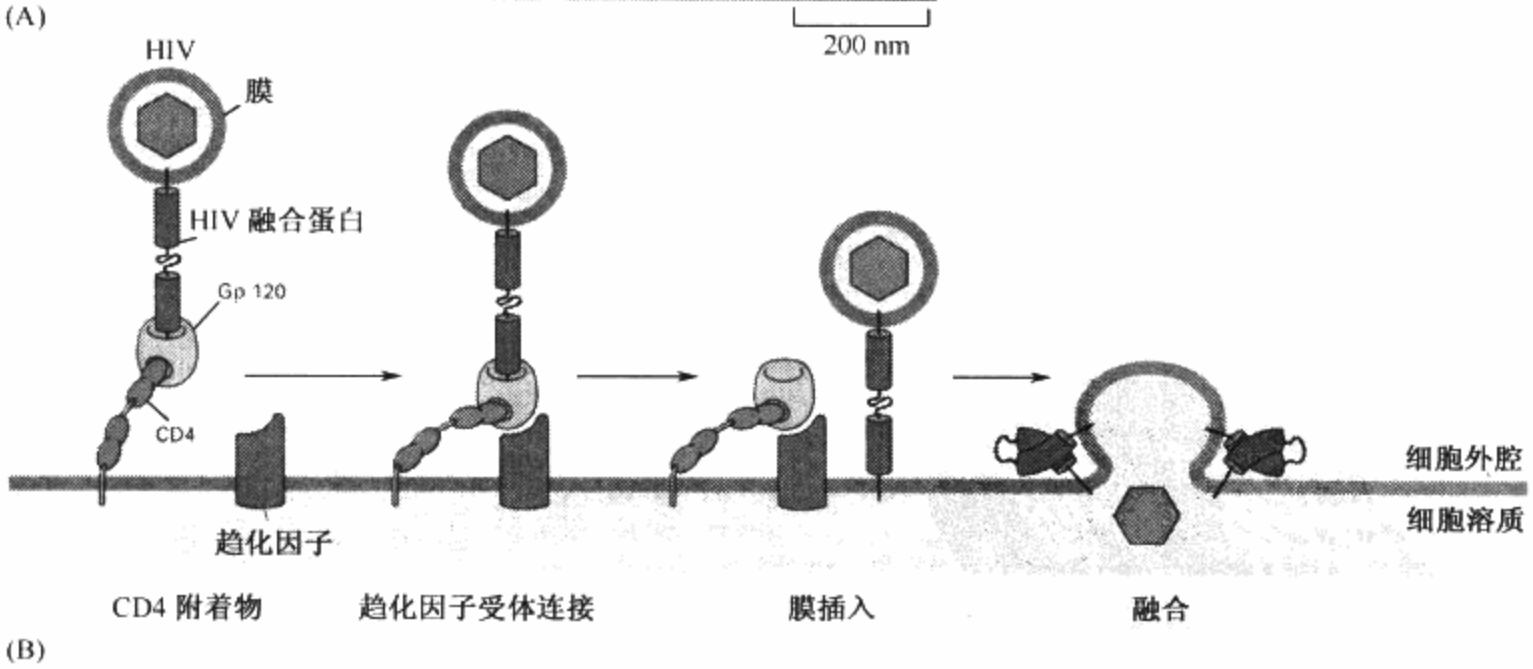
SNARE 被认为在膜融合中起了重要的作用。SNARE 复合物的形成类似于一个绞盘在运作，它利用相互作用的螺旋彼此缠绕释放的能量将膜拉在一起，同时将街面上的水分子挤出来（图 13-15）。当嵌有纯化的 v-SNARE 的脂质体与带有匹配的 t-SNARE 的脂质体混合时，它们的膜发生融合，尽管速度很慢。在细胞中，被招募到融合位点的其他蛋白质可能与 v-SNARE一起共同参与起始融合。此外，抑制蛋白必须被释放以保证 SNARE 对完整的拉在一起。在一些情况下，如调节型胞吐作用过程中（下面讨论），局部的 Ca^{2+} 流能引发融合的发生。

病毒融合蛋白和 SNARE 可能利用相似的机制起作用

除了在囊泡运输过程中外，膜融合在一些其他的过程中也是非常重要的。例如，受精过程中精子和卵母细胞膜间的融合（讨论见第 20 章）和肌肉细胞发育过程中成肌细胞的融合（讨论见第 21 章）。所有的膜融合都需要特异的蛋白质并且受到严格的控制以保证只有合适的膜才能融合。这些控制对细胞和各种不同的细胞内有膜包被的区室的鉴定是非常重要的。

由病毒融合蛋白催化的膜融合是目前研究的最多的。这些蛋白质对病毒的包膜（以脂双层为基础的膜包被）进入所感染细胞至关重要（讨论见第 5 章和第 25 章，CD）。例如，病毒一造成 AIDS 的人免疫缺陷病毒（HIV）一结合到细胞表面的受体上然后和质膜融合(图 13-16)。





(B)

图 13-16　有包被的病毒进入细胞

(A) HIV 通过其膜与细胞质膜的融合进入细胞的电镜图。(B) 一个 HIV 膜融合过程的模型。HIV 首先结合到淋巴细胞表面的 CD4 蛋白上。这种相互作用受结合到 HIV 融合蛋白的 gp120 的调节。正常情况下作为趋化因子受体的另一个宿主细胞表面蛋白与 gp120（讨论见第 24 章）。这种相互作用使 HIV 融合蛋白将埋在内部的疏水融合肽段暴露出来并插入质膜中。三聚体的融合蛋白作为完整的膜蛋白暂时地锚定在相对的膜上。随后自发重排，形成一个压缩在一起的六螺旋束。重排释放的能量使膜越过通常情况下阻止膜融合发生所需的高能态，将两种膜拉在了一起。

因此 HIV 融合蛋白就像一个捕鼠器，是一个潜在能量的储备库，能量释放出来就可以用来做机械功

膜融合使病毒的核酸进入胞质并复制。其他的一些病毒，如流感病毒，首先通过受体介导的胞吞途径进入细胞然后被运送到胞内体。这种情况下，胞内体中的低 pH 激活病毒包被上的一个融合蛋白，融合蛋白催化病毒和胞内体膜的融合，这同样释放出了病毒核酸进入胞质。

流感病毒和 HIV 的融合蛋白的三维结构为我们理解这些蛋白质催化的融合过程的分子机制提供了重要的根据。处于低 pH 的流感病毒和与受体结合的 HIV 融合蛋白会将以前埋在蛋白质内部的称之为融合区的疏水区暴露出来。据观察，这些暴露的疏水区会直接插入靶膜的脂双层的疏水核心。因此，在某一时刻，这些病毒融合蛋白是同时处于两种脂双层上完整的膜蛋白。融合蛋白的结构重排使得两种脂双层非常靠近彼此，稳定性降低随后融合在一起（图 13-16）。对病毒的融合来说，融合蛋白是唯一需要的组分，这同时支持了 SNARE 也是细胞中脂双层融合过程的重要组分的可能性。

小结

真核细胞中膜包被的不同的区室之间的差异是通过特定的膜组分在区室之间的直接的、选择性的运输实现的。圆形的或管状的转运泡从受体膜上特定的有包被的区域出芽。包被蛋白的装配使特异的膜和可溶性的转运物分子聚合在一起并驱动囊泡的形成。

在各种各样的有被小泡中研究最清楚的是网格蛋白有被小泡，它介导质膜和高尔基体网状结构之间的运输。而 COPⅠ有被小泡和 COPⅡ有被小泡通常介导内质网和高尔基体之间以及高尔基体膜囊之间的转运。在网格蛋白有被小泡中，结合素蛋白将网格蛋白和囊泡膜连接在一起，囊泡膜将不同的转运物分子包装在囊泡中。出芽后网格蛋白很快脱离，这是囊泡与合适的靶膜融合所必需的。

单体 GTPase 帮助调节囊泡运输中不同的步骤，包括囊泡的出芽和锚定。与包被蛋白相互作用的 GTPase，包括 Sar1 蛋白和 ARF 蛋白，调节包被蛋白的装配和去装配。一个 Rab 蛋白家族是在膜泡寻靶方面起作用的 GTPase。它们和 v-SNARE 一起整合在出芽的运输泡中，确保囊泡只能将它们的运输物运送到合适的膜包被的区室：其上有互补的 t-SNARE 的区室。v-SNARE 和 t-SNARE 的互补结合形成稳定的反式-SNARE 复合物，从而将膜的脂双层拉近并融合在一起。

从内质网到高尔基体的运输

如第 12 章所讨论的，胞质中新合成的蛋白质穿过内质网膜进入内质网，从而进入生物合成分泌系统。在随后的运输过程中，从内质网进入高尔基体，然后从高尔基体再到达细胞表面和其他地方，这些蛋白质穿过一系列的区室，并在其中连续地被修饰。蛋白质从一个区室到另一个区室的转运涉及往前运和回收途径的精细平衡。一些运输泡选择性地将一些转运物分子运输到下途径中的下一区室而另一些转运泡回收逃逸蛋白并将它们运回到先前所在的正常情况下起功能的区室。因此，蛋白质从内质网到质膜的运输涉及许多筛选步骤，连续地选择特异的膜和转运物分子包装到从内质网或高尔基体上出芽的运输泡或细胞器片段中并运输。

在这一部分，我们主要关注**高尔基体**（也叫**高尔基体复合物**）。高尔基体是细胞内糖类合成的主要部位，也负责将内质网合成的多种蛋白质进行筛选和分门别类的运送。细胞中的许多多糖都是在高尔基中合成的，包括构成植物细胞壁的半纤维素和果胶质以及动物细胞外基质中的大部分糖胺聚糖（讨论见第 19 章）。在运输途径中，高尔基体处于内质网的下游，高尔基体中合成的大部分糖被连到内质网运送而来的蛋白质和脂类的寡糖链上。一些寡糖能作

为一种靶标指导特异的蛋白质进入将到达溶酶体的运输泡。但是对大多数蛋白质和脂类，一旦它们在高尔基体中获得了合适的寡糖，就会被到达其他目的地的运输泡识别。

蛋白质被 COPⅡ包被的运输泡运出内质网

已经进入内质网的蛋白质，不管是要被运入高尔基体还是运送到更远的地方，都先要被包装进 COPⅡ包被的运输泡中以起始其进入生物合成分泌途径的旅途。这些运输泡从内质网上一个特异的，叫做内质网出口位置的地方，这一地区的膜上没有核糖体结合其上。在大多数动物细胞中，内质网出口位置随机地分布在内质网膜上。

以前认为不属于内质网的蛋白质都将被缺省包装进转运泡中。然而，现在清楚了，这种包装进转运泡离开内质网的过程也是有选择性的。许多转运物分子被召集到转运泡中从而将它们集中起来。目前认为，这些分子表面有运出信号，可以被互补的受体蛋白识别，受体蛋白与出芽的运输泡上 COPⅡ包被的组分相互作用，从而将这些分子包装进运输泡。(图 13-17)。没有运出信号的蛋白质也可以被包装进运输泡，只是速度非常慢，因此即使在内质网中正常起功能的蛋白质（也叫内质网滞留蛋白）也可能被包装进去，慢慢地溜出内质网。与此类似，在内质网中高浓度存在的分泌蛋白即使没有分选受体的帮助也能离开内质网。

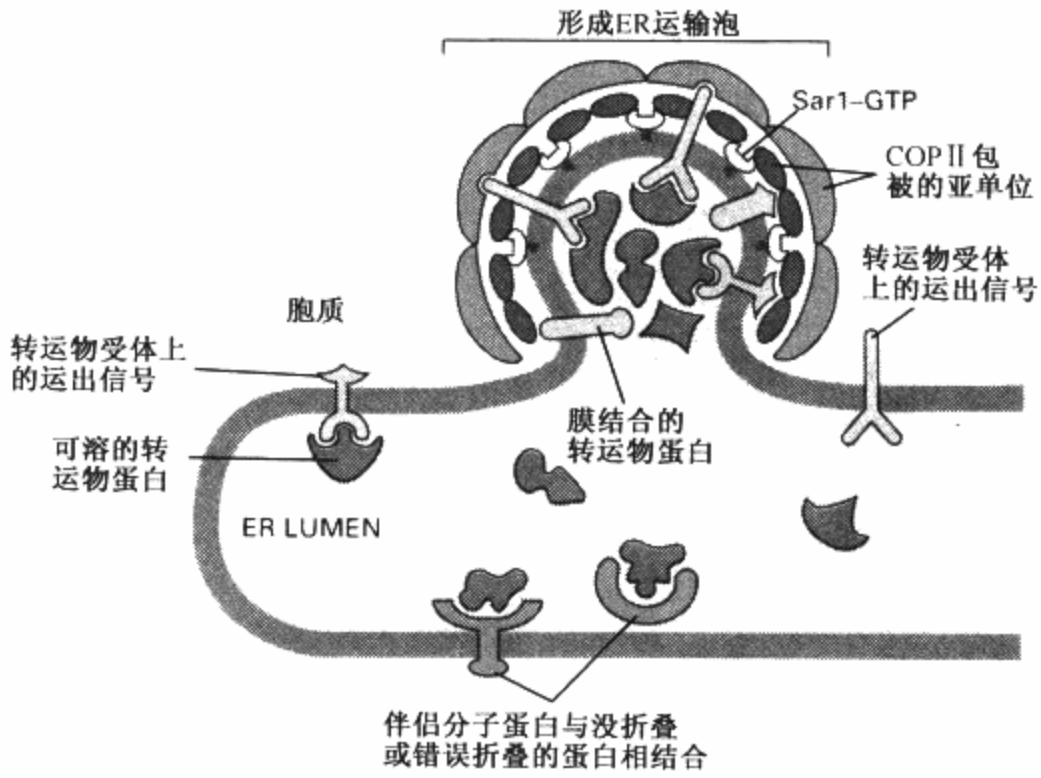


图 13-17　转运物分子被纠集到内质网运输泡中

通过与 COPⅡ包被蛋白的结合，膜蛋白和转运物蛋白富集于运输泡中离开内质网。膜蛋白通过胞质面的运出信号与 COPⅡ包被蛋白的相互作用而被包装进出芽的运输泡中。许多被 COPⅡ包被蛋白捕获的膜蛋白又反过来作为转运物受体结合腔内的转运物帮助它们被装进运输泡中。一个典型的 50nm 的运输泡包含 200 种不同种类的膜蛋白。如图所示，不能正确折叠的和未装配好的蛋白质被滞留在内质网中

对从内质网被运送到高尔基体或是更远地方的蛋白质所带的运出信号，除了一个外，现在知道的还比较少。ERGIC53 好像是能够作为一个能将许多分泌蛋白包装进 COPⅡ包被的运输泡的受体。这种蛋白质在转运中的作用是由于人类中的一种可遗传的突变而被鉴定出来的，突变个体中分泌的两种凝血因子（因子Ⅴ和因子Ⅷ）在血清中的含量明显降低，导致大量出血。ERGIC53 蛋白是一个与甘露糖结合的外源凝集素，目前认为它识别因子Ⅴ和因子Ⅷ上的甘露糖从而将蛋白质包装进运输泡中。

只有正确折叠和装配的蛋白质才能离开内质网

蛋白质只有正确折叠才能离开内质网，如果是多亚基蛋白质复合物的亚基，他们可能需要被装配完全才行。那些不能正确折叠的和未装配好的蛋白质被滞留在内质网中，与分子伴侣（讨论见第 6 章）结合，如 BiP 或 calnexin。这些伴侣蛋白将运出信号覆盖住或者将蛋白质锚定在内质网中（图 13-18）。这些不能正常运出的蛋白质最终被运回胞质中被其中的蛋白酶体（讨论见第 12 章）降解。这种质量控制步骤是非常重要的，因为这些不能正确折叠的和未装配好的蛋白质被运出可能会影响正确行使功能的蛋白质。这种纠错行为的靶蛋白的数量的比例是相当惊人的。例如，90%多的新合成的 T 细胞受体亚基（讨论见第 24 章）和乙酰胆碱受体（讨论见第 11 章）在到达细胞表面去行使功能以前都被降解。因此，细胞必须生产大量的过量蛋白质，从中选择出很少量的蛋白质正确折叠和装配。

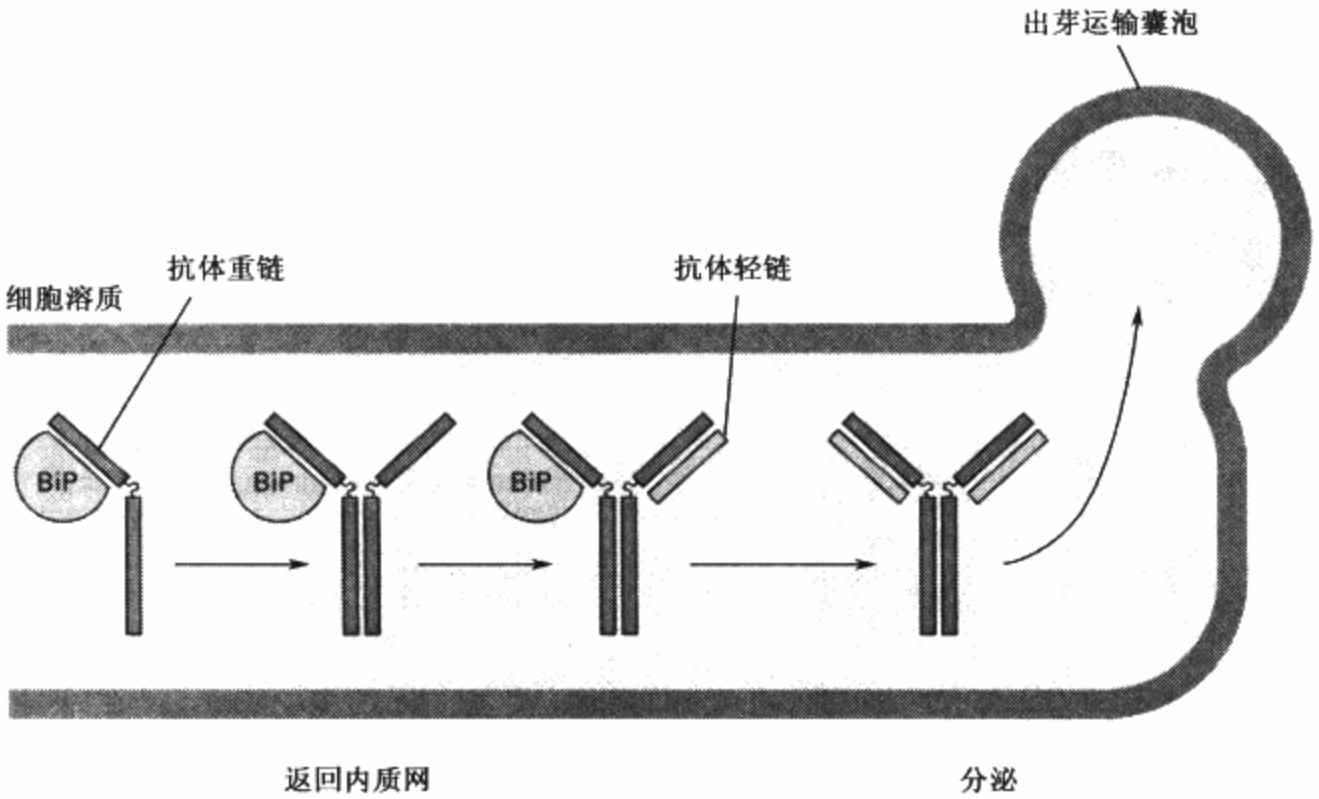


图 13-18　未装配好的抗体蛋白滞留在内质网中

抗体分子是由 2 条重链和 2 条轻链构成的（讨论见第 24 章），在内质网中装配。目前认为伴侣蛋白 BiP 结合到所有未装配完全的抗体分子上，覆盖住了运出信号。因此只有完全装配好的抗体分子才能离开内质网并得到分选

然而，有时这种质量控制机制也是有害的。引起一种遗传性胰腺病，囊肿性纤维化的主要突变能产生一种对 Cl 运输非常重要的，错误折叠程度比较低的质膜蛋白。尽管如果这种突变蛋白到达之末就会非常好地行使功能，但是它被滞留在内质网中。因此这种严重的疾病不是由于突变是蛋白质失活造成的，而是由于有活性的蛋白质在到达质膜以前就被遗弃了。

从内质网到高尔基体的转运是由管状运输簇介导的

运输泡从内质网出口位置出芽并脱包被后，就会互相融合。来自同一区室的膜融合叫做同型膜融合，区别于来自不同区室的异型膜融合。与异型融合一样，同型融合也需要配对的 SNARE，这时相互作用是对称的，两个膜上都有 v-SNARE 和 t-SNARE（图 13-19）。

基于它们电镜下的回旋结构，内质网起源的运输泡相互融合形成的结构叫做管状运输簇[图 13-20(A)]。这些簇构成了独立于内质网的新的区室结构，但是缺乏内质网中起功能的许多蛋白质。它们是连续发生的并作为将物质从内质网到高尔基体运输的转运包起作用。这些

簇相对来说存在时间短，因为它们迅速地沿着微管移动到高尔基体，融合到高尔基体并释放出内含物［图 13-20(B)］。

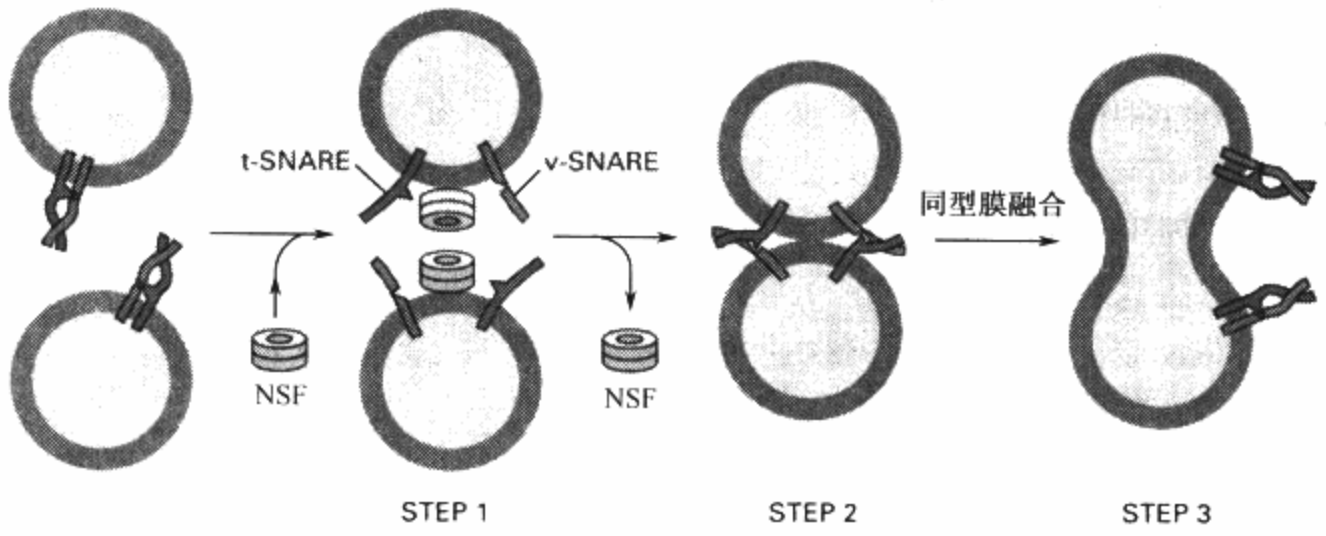


图 13-19　同型膜融合

步骤 1，两种相同的膜上的相同的 v-SNARE 和 t-SNARE 配对被 NSF 撬开（图 13-13）。在步骤 2 和步骤 3 中，已经分离的配对 SNARE 与相邻的相同膜上的 SNARE 相互作用，导致膜融合的发生和一个连续地区间的形成。随后，这一区间由于来自有配对 SNARE 存在其上的相同膜的运输泡的同型融合不断变大。同型融合不仅限于管状运输簇的形成；胞内体也以相似的机制融合成大的胞内体。Rab 蛋白帮助调节细胞中同型融合的程度，也即融合区间的大小

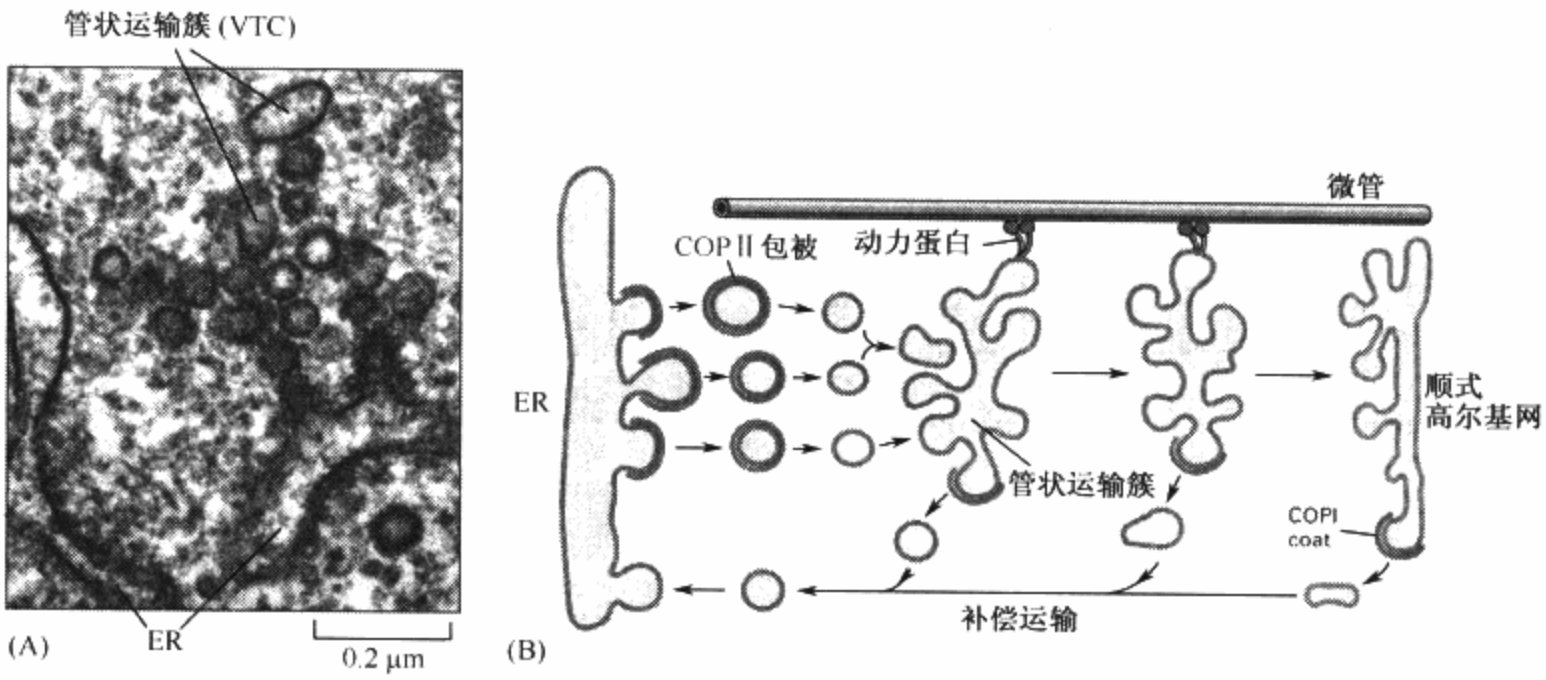


图 13-20　管状运输簇

(A) 从内质网膜形成的管状运输簇的电镜图。在电镜下看到的许多运输泡样的结构是这一切片平面上和平面下相互交错的管状结构的重叠部分。(B) 管状运输簇沿着微管移动，将蛋白质从内质网运到高尔基体。COP Ⅰ包被的介导从这些管状物出芽返回到内质网的小泡生成。如图所示，在运输泡性形成后包被迅速的区装配［(A) 由 William Balch 馈赠］

管状运输簇一形成便开始自身出芽。不同于从内质网上出芽的 COP Ⅱ包被的运输泡，这些运输泡是 COP Ⅰ包被的。它们将从内质网逃逸的滞留蛋白和参与内质网出芽的蛋白质带回到内质网。这一回收过程表明了调节包被装配反应的控制机制的精细。COP Ⅱ包被脱离几秒后 COP Ⅰ包被就开始装配。这种包被蛋白装配的转换是如何控制的，至今还不清楚。

回收（逆行）过程在管状运输簇沿着微管移动到高尔基体的过程中一直持续发生。因此，管状运输簇在这一过程中继续成熟，由于一些受选择的蛋白质运回到内质网中而不断地改变组成。在管状运输簇将运输物运到了高尔基体后，类似的过程将从高尔基体继续。

内质网回收途径利用分选信号

将内质网逃逸的滞留蛋白带回到内质网的回收途径依赖于内质网回收信号。例如，含有结合到 COP Ⅰ包被的滞留内质网膜蛋白被包装进 COP Ⅰ包被的小泡，重新运回内质网。目前研究的最明白的这种信号包含两个赖氨酸，另外在内质网膜蛋白的 C 端有两个其他的蛋白质。用氨基酸的单字母缩写，叫做 KKXX 序列。

可溶性的内质网滞留蛋白，如 BiP，在 C 端也包含一段短的回收信号，但是是不同的：它由 Lys-Asp-Glu-Leu 或相似的序列组成。如果将 BiP 上的这一信号（叫做 KDEL 序列）通过遗传操作去掉，蛋白质将会从细胞中分泌出来的速度将很慢。如果将这一信号加到正常分泌的蛋白质上，这种蛋白质将被高效地带回到内质网中并在此积累。

不同于内质网膜蛋白上能与 COP Ⅰ包被蛋白直接作用的回收信号，可溶性的内质网滞留蛋白必须结合到特异的受体蛋白上，如 KDEL 受体——一个能结合 KDEL 序列的多次跨膜蛋白，它将其上结合的所有蛋白质包装进 COP Ⅰ包被的逆行运输泡。为了完成这一任务，KDEL 受体必须在内质网和高尔基体之间被循环利用并且在这两种区室上对 KDEL 序列的亲和力不同。受体蛋白在管状运输簇和高尔基体上必须对 KDEL 序列有很高的亲和力，以便捕获存在于这些地方的低浓度的内质网滞留蛋白。然而，在内质网上受体蛋白必须对 KDEL 序列的亲和力很低，以便在内质网将包含 KDEL 序列的内质网滞留蛋白在高浓度存在的情况下卸下来。

受体蛋白怎样才能根据其所在的区域而改变对 KDEL 序列的亲和力呢？答案可能和不同区室的受膜上的 H^+ 泵调节的不同的 pH 有关。KDEL 受体在管状运输簇和高尔基体偏酸性的环境下能结合 KDEL 序列，但是在内质网近中性的 pH 下释放。下面我们会讨论，这种 pH 敏感的蛋白质和蛋白质相互作用是细胞中许多分选步骤得以实现的基础（图 13-21）。

大多数在内质网和高尔基体相对面起作用的膜蛋白，包括 v-SNARE、t-SNARE 和许多转运物受体，进入回收途径回到内质网。其中有很多蛋白质的循环利用是受信号调节的，如

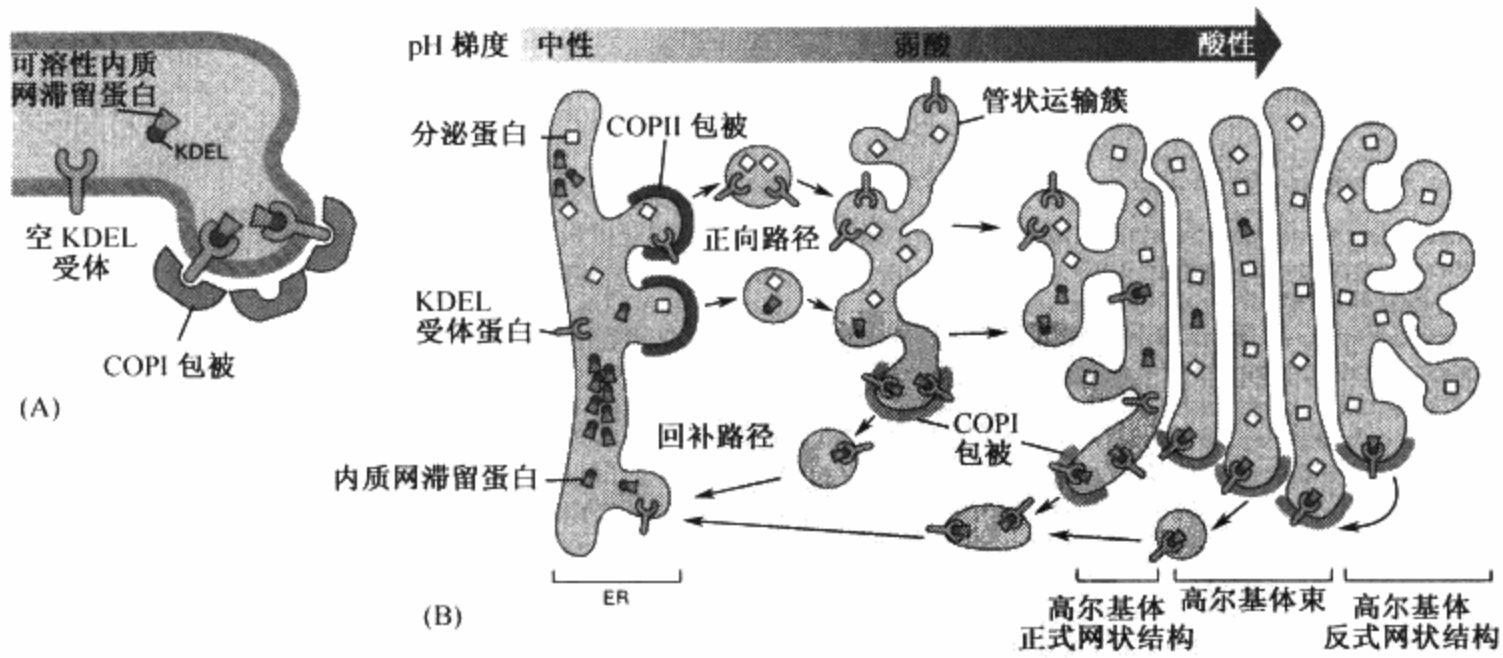


图 13-21　一个内质网滞留蛋白回收的模型

这些逃逸的内质网滞留蛋白通过运输泡被送返内质网。（A）存在于管状运输簇和高尔基体上的 KDEL 受体蛋白捕获可溶性的内质网滞留蛋白通过 COP Ⅰ包被的逆行运输泡将它们送回到内质网。KDEL 受体蛋白在低 pH 环境中结合其配体，构型改变以利于被招募到处芽的 COP Ⅰ包被小泡里。（B）内质网滞留蛋白的回收起始于管状运输簇并从高尔基体的各个部分连续发生。滞留蛋白在内质网近中性的 pH 下从受体上解离，然后返回高尔基体重新利用

前所述，而有些却不需要什么特异的信号。因此，在回收信号增加了回收途径的效率的同时，一些蛋白质（包括许多高尔基体的酶）以很慢的速度随机地进入将返回内质网的运输泡中被运到内质网。这种高尔基体酶的循环连续地存在于内质网和高尔基体之间，但是这种返回的速度非常慢，在高尔基体中我们都能找到这些酶。

许多蛋白质被选择性地留在它们起功能的区室内

KDEL 回收途径只能部分解释内质网滞留蛋白是怎样被保留在内质网中的。如我们所料，表达经过遗传学操作修饰的，即 KDEL 序列被出去的蛋白质的细胞能够将蛋白质分泌到胞外。但是分泌过程比正常的分泌蛋白被分泌出的速度要慢得多。看来内质网滞留蛋白存在于内质网中是不需要 KDEL 信号的，只有那些逃逸的滞留蛋白通过 KDEL 受体蛋白被捕回来。一个可能的滞留机制是，内质网滞留蛋白彼此结合形成一个大的复合物从而不能进入运输泡中去了。因为内质网滞留蛋白以很高的浓度存在于内质网中（估计有毫摩尔），不需要很高的亲和力大多数蛋白质就能结合形成复合物了。

高尔基体酶跨膜区域的长度决定了它们的细胞定位

动物细胞中离开高尔基体运往质膜的运输泡中富含胆固醇。胆固醇位于脂双层糖脂相互交联的糖链的空隙中，使它们紧密地结合在一起从而使脂双层两小叶的脂类的头部距离加大（图 10-11）。因此有胆固醇的运输泡的脂双层的厚度比高尔基体膜本身要大得多。因此如果一个跨膜蛋白要进入从高尔基体出芽运往质膜的运输泡中，它必须有足够长的跨膜区段一跨过这一厚膜，跨膜区短的蛋白质就被排除在外了。

这就可以用来解释为什么正常存在于内质网和高尔基体中的跨膜蛋白的跨膜区（15 个氨基酸左右）要比质膜蛋白的跨膜区（20～25 个氨基酸）短了。当用重组 DNA 技术将高尔基体中的跨膜蛋白的跨膜区延长后，这种蛋白质就不能有效地滞留于高尔基体中了，而是被转运到了质膜上。因此，至少有一些高尔基体蛋白滞留于高尔基体中是由于不能被包装进从运往质膜的运输泡中的原因。

高尔基体是由一系列有序的间隔组成的

由于高尔基体体积大，形状规则，它是被早期的光镜所观察到的细胞器之一。它是由一些排列较为整齐的扁平膜囊堆叠在一起形成的，通常 4～6 个（图 13-22），也有一些鞭毛虫能高达 60 个。许多的堆叠相通的膜囊之间由管状结构连接在一起形成一个大的复合体，通常位于细胞核附近，靠近中心体［图 13-23(A)］。这种细胞定位是依赖于微管的。如果在实验中使微管解聚，高尔基体将重新组织形成散布于胞质中并靠近内质网出口位置的堆叠。在一些细胞中，包括许多植物细胞，数百个单个的高尔基体堆叠通常散布于胞质中［图 13-23(B)］。

转运物分子在通过高尔基体运输的过程中要经历一系列的共价修饰。每一个高尔基体堆叠有两个不同的面：**顺面**（或称进入面）和**反面**（也称出口面）。顺面和反面都是和特异的间隔相互联通的，每一个面都是由相互连接的管状和膜囊结构组成的：分别是**顺面网状结构**（**CGN**）（也叫媒介间隔）和**反面网状结构**（**TGN**）。高尔基体顺面网状结构接受来自内质网的囊泡管状簇中的蛋白质和脂类，然后它们从高尔基体反面网状结构出去在到达细胞表面或其他区室。但是这些网状结构对蛋白质的筛选是非常重要的。如前面讲到的，进入 CGN 的蛋白质可以在高尔基体中继续往前运或是返回内质网。与此类似，从 TGN 出来的蛋白质或是往前运或是根据其目的地的不同接受筛选，到达溶酶体，分泌泡或是细胞表面，或者被运回

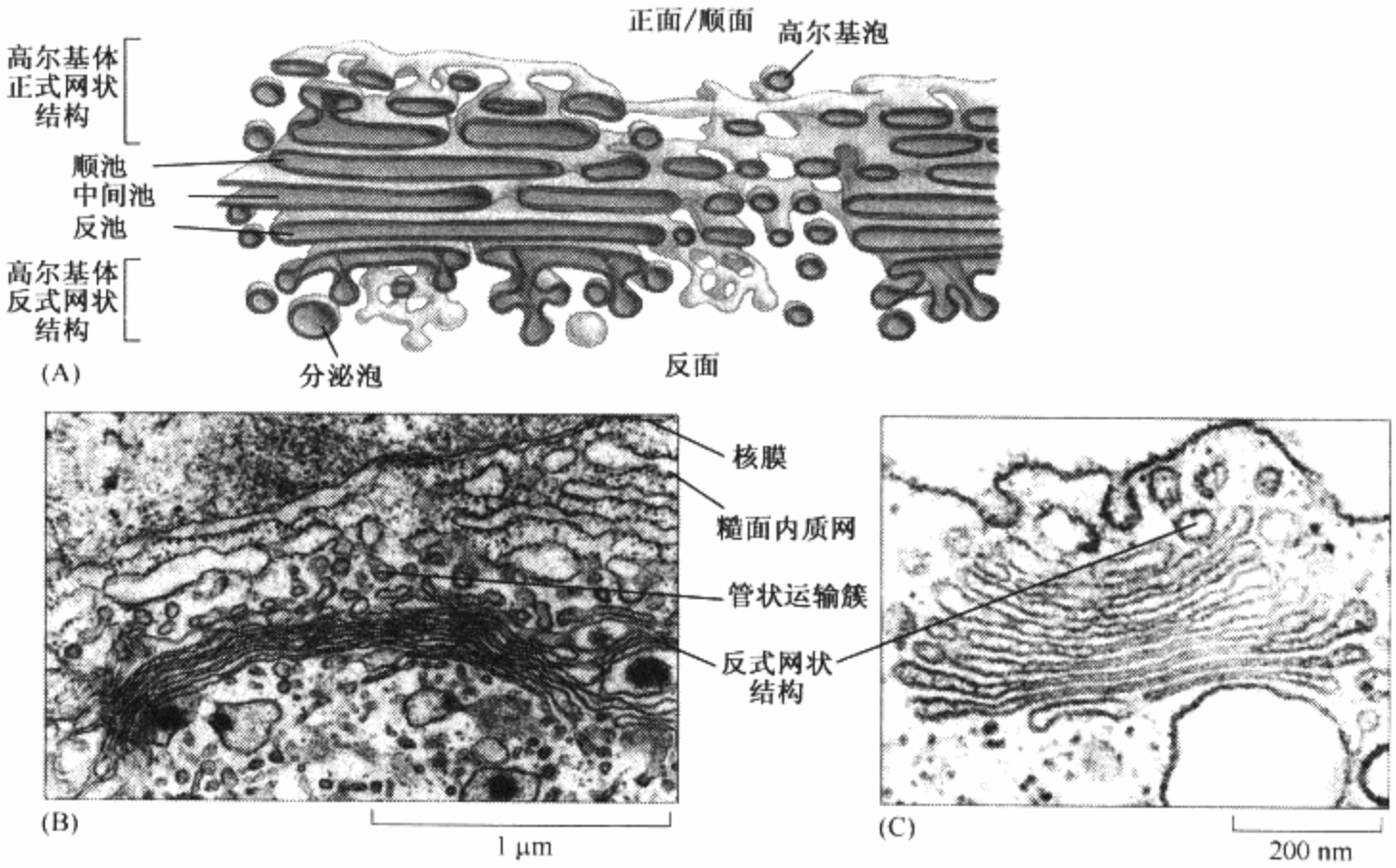


图 13-22　高尔基体

（A）在分泌型的动物细胞中，电镜下高尔基体的三维重构，高尔基体的顺面是靠近内质网的。（B）一动物细胞薄切片的电镜图，强调从内质网到高尔基体的过渡区。（C）植物细胞中（衣藻）高尔基体的电镜图。植物细胞中的高尔基体更精细，与动物细胞相比，与其他细胞内膜之间的界限更明显［（A）根据 A. Rambourg shd Y. Clermont, Eur. J. Cell Biol 51：189～200，1990 所绘；（B）经 Brij J. Gupta 许可；（C）经 George Palade 许可］

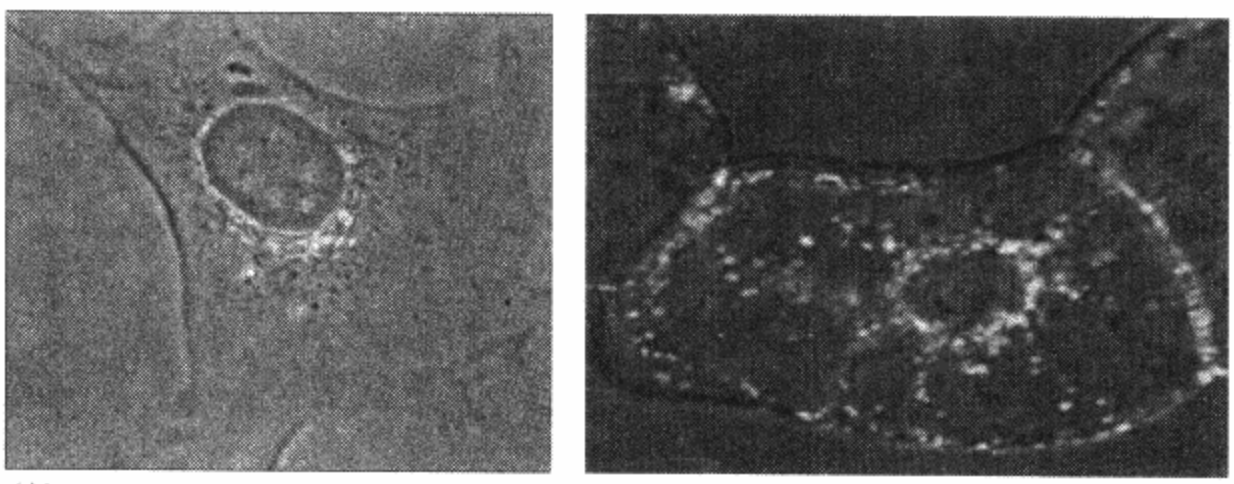


图 13-23　高尔基体的电镜图

（A）在培养的成纤维细胞中用识别高尔基体滞留蛋白的荧光抗体标记的高尔基体。高尔基体是有极性的，面向细胞固定以前前进的方向。（B）一种表达由高尔基体滞留酶融合到绿色荧光蛋白上形成的报道基因的植物细胞中的高尔基体。绿色的点是高尔基体堆叠。浅绿色的网状结构是包含许多高尔基体酶的内质网，这些酶是通过回收途径连续地从高尔基体到达内质网的［（A）经 John Henley 和 Mark McNiven 许可；（B）经 Chris Hawes 许可］

先前的区室。

高尔基体在分泌细胞中含量很大，例如，肠上皮能分泌大量的富含多糖的胶质的杯状细胞（图 13-24）。在这些细胞中，在高尔基体的反面通常形成大的运输泡，面向发生分泌的质膜区域。

寡糖链在高尔基体中经过加工

如第 12 章所讨论的，一种特异的 *N*-连接的寡糖链作为一个整体加入到内质网中的许多蛋白质上，然后在内质网中经过一定的加工。不同蛋白质的糖链在高尔基体中进一步被修饰或添加。最终产生两大类的 *N*-连接的寡糖链连接在哺乳动物糖蛋白上（图 13-25）：复杂寡糖

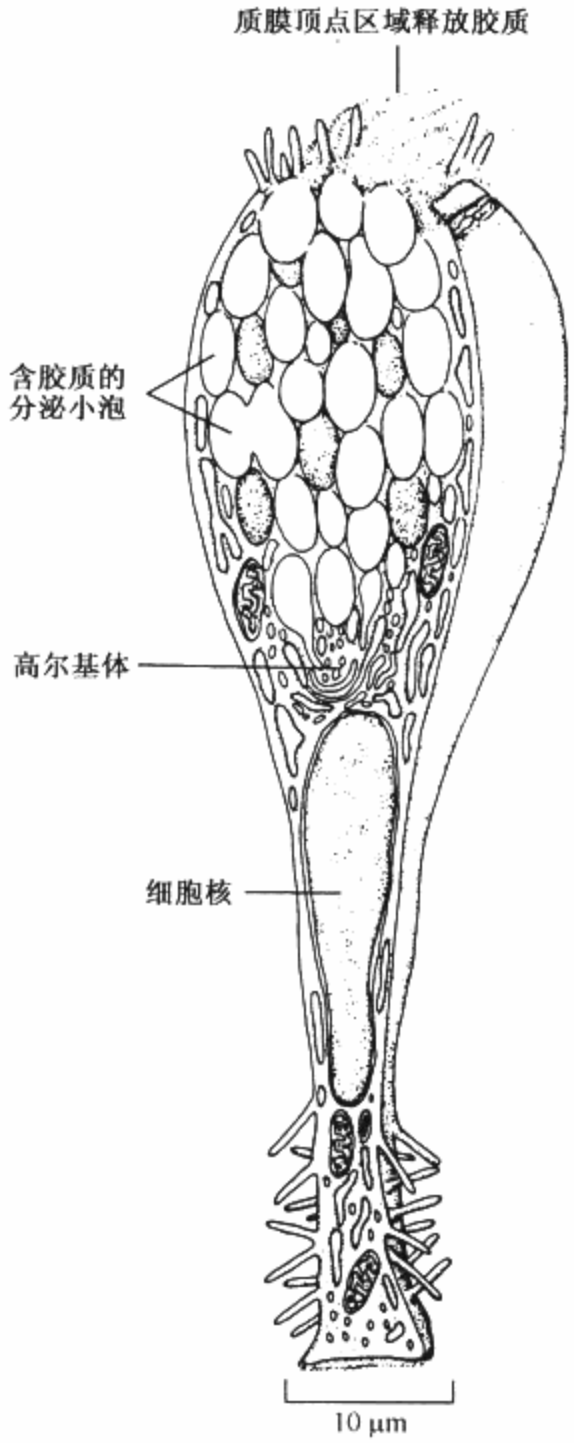


图 13-24　小肠的杯状细胞

这种细胞特异的分泌胶质，是在内质网和高尔基体中合成的糖蛋白和蛋白聚糖的混合物。像所有的上皮细胞一样，杯状细胞是高度极化的，质膜的顶点区域面向肠腔，底部区域面向基底膜。高尔基体也是高度极化的，有利于胞吐作用在质膜顶点区域将胶质释放出去（After R. v. Krstic, illustrated Encyclopedia of Human Histology. New York: Springer-Verlag, 1984）

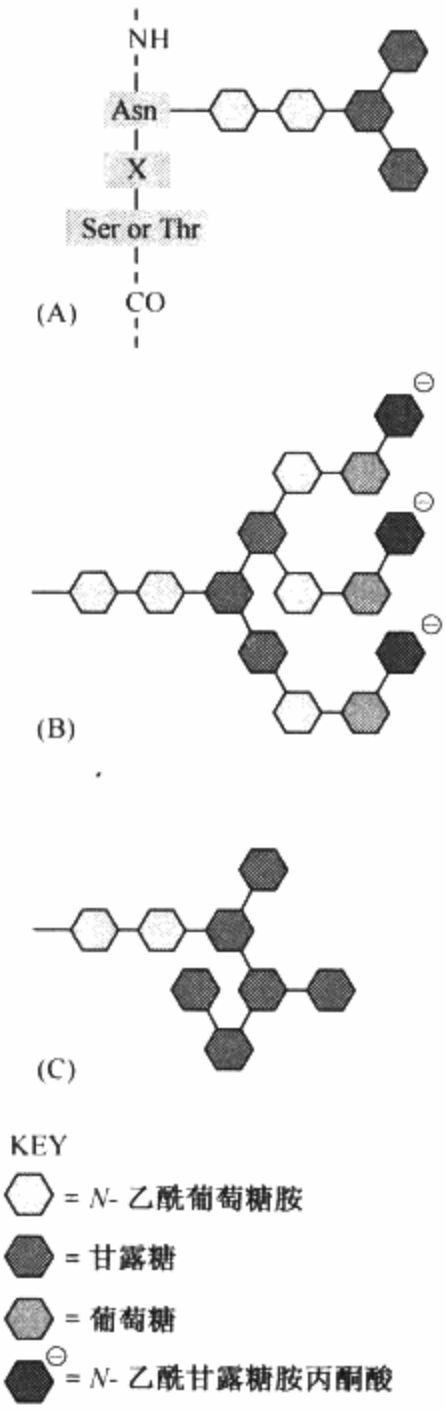


图 13-25　在成熟的糖蛋白中存在的两大类天冬氨酸-连接（*N*-连接）的寡糖链

（A）复杂寡糖链和高甘露糖寡糖链都含有一个在内质网中加入的 *N*-连接的寡糖链的共同核心，典型的结构含有 2 个 *N*-乙酰葡（萄）糖胺和 3 个甘露糖（Man）。（B）每一个复杂寡糖链都是由一个核心区和连接到核心区上的可变数目的三糖重复单位（*N*-乙酰神经氨酸-半乳糖-唾液酸）构成的末端区构成。末端区经常被截去一块，只含有 *N*-乙酰神经氨酸（GlcNAc）和半乳糖（Gal）或只含有 GlcNAc。此外，海藻糖也可能被加入到连接 Asn 的核心 GlcNAc 上。因此，尽管加工和添加糖的过程是有序的，最终的复杂糖可能是不同种类的。此外，尽管这里画的是 3 个末端分支的复杂糖链，2 个和 4 个分支的复杂糖链也是很常见的，这与糖蛋白和细胞的种类有关。（C）高甘露糖寡糖链核心区不经过加工，另外的甘露糖可以加入其上。也有那种一个甘露糖分支和一个 GlcNAc 和 Gal 的分支组成的杂和糖链。糖基转移酶识别三肽序列将起始的寡糖链加入 Asn 上。Ser-丝氨酸；Thr-苏氨酸；*X*-任意氨基酸

链和高甘露糖寡糖链。有时两种寡糖链存在于一种多肽链上的不同地方。

复杂寡糖链是通过对内质网中加入蛋白质上的 *N*-连接的寡糖链的一些加工和添加另外的单糖形成的。高甘露糖寡糖链在高尔基体中部添加额外的单糖，只是包含 2 个 *N*-乙酰葡（萄）糖胺和许多甘露糖，数目与连接在脂上的寡糖链前体中的甘露糖数目相当。复杂寡糖链除了原先存在的 2 个 *N*-乙酰葡（萄）糖胺外还包括数目不定的半乳糖和唾液酸，有时还有海藻糖。唾液酸尤其重要，因为它是糖蛋白中唯一带负电荷的单糖。对一个糖链来说时保持其高甘露糖的结构还是继续加工在很大程度上是由其在蛋白质上的位置决定的。如果糖链和位于高尔基体上的加工酶离得很近，很可能就会被加工成复杂寡糖链的形式；如果糖链被紧紧的固定在蛋白质表面不能和酶接触，就很有可能保持其高甘露糖的结构。产生复杂寡糖链的有序过程如图 13-26 所示。

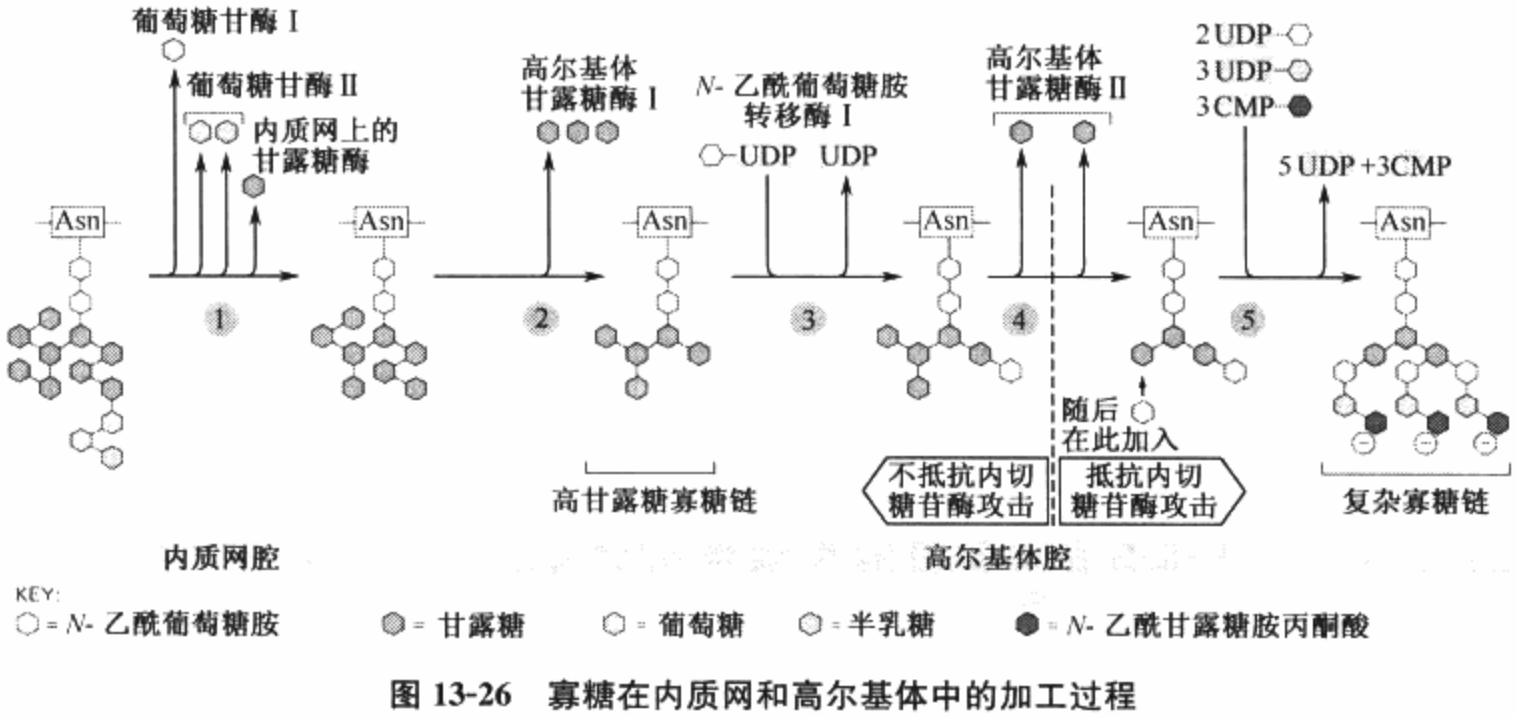


图 13-26　寡糖在内质网和高尔基体中的加工过程

加工过程是高度有序的，每一步都依赖于前面的步骤。加工开始于内质网，首先将转移到蛋白质上的寡糖链上的葡萄糖除去。然后内质网膜上的一种甘露糖酶将一个特异的甘露糖除去。接下来的步骤在高尔基体中进行。甘露糖酶 I 首先除去 3 个甘露糖，然后由 *N*-乙酰葡（萄）糖胺转移酶 I 添加上 1 个 *N*-乙酰葡（萄）糖胺，这样就可以使甘露糖酶 II 除去另外的甘露糖，从而产生了存在于复杂寡糖链中的 3 个甘露糖的核心结构。在这一阶段，复杂寡糖链核心结构中的 2 个 *N*-乙酰葡（萄）糖胺之间的键能抵抗高度特异性的内切糖苷酶（Endo H）的攻击。因为下面步骤产生的结构也是抗 Endo H，所以用这种酶处理被广泛地用来区别复杂寡糖链和高甘露糖寡糖链。最后，如图 13-24 所示，另外的 *N*-乙酰葡（萄）糖胺，半乳糖和唾液酸被加入其上。这些复杂寡糖链形成的最终步骤发生在高尔基体的顺面膜囊区域。单糖连接到标出的核苷酸上被活化，3 种类型的糖基转移酶以活化的核苷酸单糖为底物依次起作用。高尔基体顺面膜囊的膜上存在着特异的载体蛋白将核苷酸单糖运入腔内，反应时核苷酸被磷酸化释放出单糖加入到腔面上的蛋白质上

蛋白聚糖是在高尔基体中装配的

在从内质网前往最终目的地的过程中，不止蛋白质上 *N*-连接的寡糖链在经过高尔基体的过程中发生改变，许多蛋白质也经过不同的修饰。许多糖被添加到丝氨酸或苏氨酸侧链的羟基上。这种 *O*-连接的糖基化的加工也像 *N*-连接的寡糖链的产生一样，是由一系列糖基转移酶催化，以高尔基体腔内的核苷酸单糖为底物，每次将一个单糖添加到蛋白质上。通常首先加入的是 *N*-乙酰葡（萄）糖胺，再是一些可变数目的单糖残基，1～10 个不等。

蛋白聚糖的核心蛋白上的糖基化是发生在高尔基体中程度最高的糖基化，最终产生蛋白聚糖。如第 19 章所讨论过的，这个过程是由一个或多个糖胺聚糖（由重复的二糖单位组成的非分支长链聚合物）通过木糖连接到核心蛋白的丝氨酸残基上。蛋白聚糖多是分泌蛋白，为

胞外基质的成分，也有一些整合在质膜上，还有很多是一些分泌黏液的主要成分，如上皮细胞保护性黏液。

糖胺聚糖在高尔基体中形成后，随后其上的单糖就被高度的硫酸化，这增加了糖胺聚糖的负电性。蛋白质上的许多酪氨酸残基在离开高尔基体不久也被硫酸化。这两种硫酸化的供体都是 3′-磷酸腺苷-5′-磷酸硫酸（PAPS），它是从胞质运到高尔基体反面网状结构中去的。

糖基化的目的是什么？

寡糖的形成和其他的生物大分子如 DNA、RNA 和蛋白质的合成很不一样。核苷酸和蛋白质的合成都有模板，是利用相同的一种或一套酶的可重复过程，而复杂的糖的合成每一步都需要一种不同的酶，每一步的产物提供下一种酶的独特底物。考虑它们进化形成的如此复杂的合成步骤，糖蛋白和鞘糖脂上的寡糖一定有其重要的功能，但是目前对此知之甚少。

例如，*N*-连接的糖基化在真核生物包括酵母中占大多数，而原核生物中就没有。因为蛋白质在从内质网运送到高尔基体的过程中（真核生物所特有的一个路径）一个或多个 *N*-连接的糖链加入到蛋白质上，有人会猜想这可能有助于蛋白质的折叠和运输。前面（讨论见第 12 章）我们已经讨论过许多利用糖作为内质网中的蛋白质折叠的分子标记的例子。例如，利用结合糖的凝集素质到从内质网到高尔基体的运输过程。后面我们还会讨论凝集素参与反面高尔基体网状结构中蛋白质的筛选。

因为糖链的柔韧性是由一定限制的，所以即使一个小的 *N*-连接的糖链也会突出在糖蛋白的表面（图 13-27），因此就限制了其他大分子的接近。例如，糖蛋白上的寡糖使其增加了对蛋白酶降解的抵抗力。细胞表面的寡糖可能提供了祖先真核细胞不同于细菌细胞的刚性的细胞壁的一种保护性的外被，使得细胞能够自由地改变形状和自由地运动。如果是这样的话，这些糖链经过修饰后也可以用于其他的目的。例如，结合在细胞表面的糖链被叫做选择蛋白（*selectins*）的跨膜凝集素识别，介导细胞之间的黏附，这将在第 19 章讨论。

糖基化还具有重要的调节功能。例如，通过细胞表面的信号受体 Notch 的信号传递对发

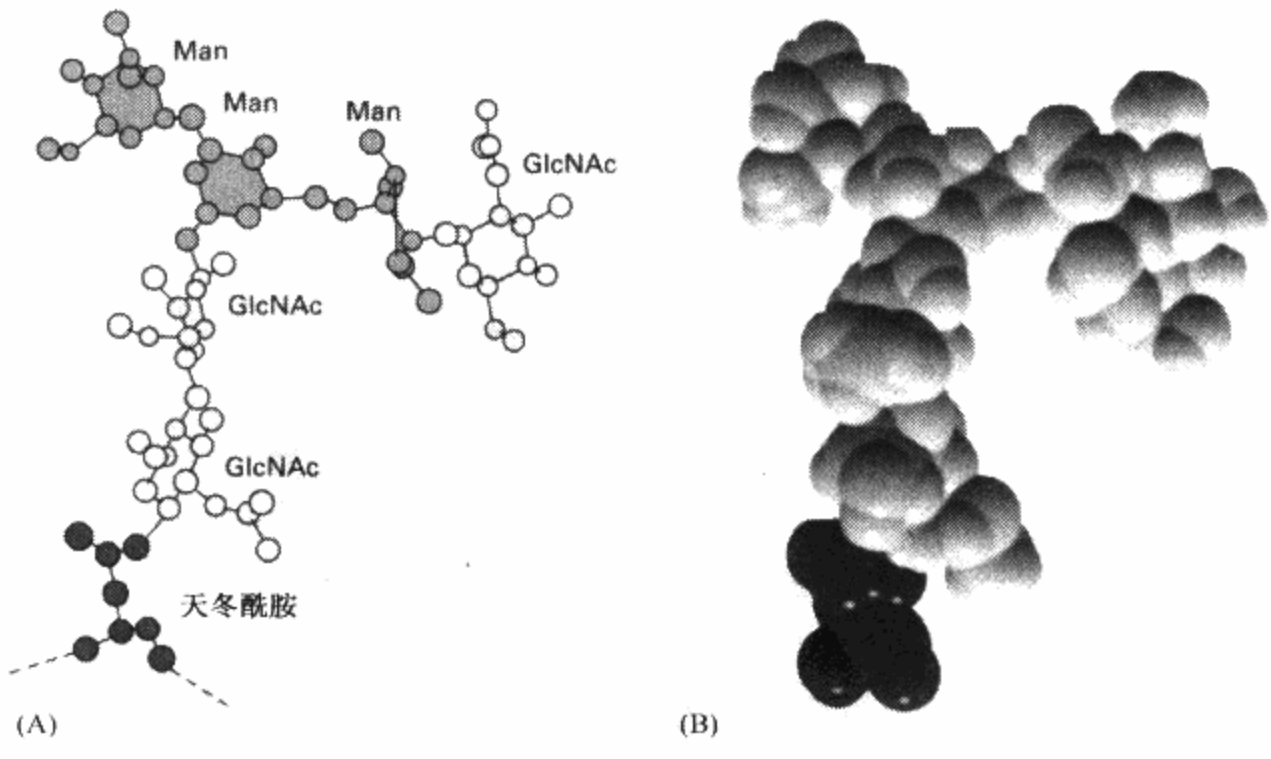


图 13-27　一个小的 *N* 连接的糖链的三维结构

由 X 射线晶体衍射分析得到的糖蛋白的结构。这个寡糖链是由 6 个糖残基构成的，从内质网上转移到蛋白质上的起始的糖链是由 14 个糖残基构成的（图 12-51）。（A）骨架模型，显示出了除氢原子外的所有的原子。（B）空间填充模型，深色的是天冬氨酸。[（B）由 Richard Feldmann 惠赠]

育过程中细胞命运的决定非常重要。Notch 是一个 *O*-糖基化的跨膜蛋白，许多丝氨酸、苏氨酸和羟赖氨酸连接着一个海藻糖。许多类型的细胞表达一种另外的糖基转移酶，能在高尔基体中将一个 *N*-乙酰葡（萄）糖胺加入到海藻糖上。Notch 受体因此敏化，有选择性的对活化刺激做出反应。糖基化以这种方式对组织发育的空间界限的确定起重要的作用。

高尔基体由一系列有序的间隔组成

从内质网出来的蛋白质在经过高尔基体顺面网状结构后进入高尔基体的第一个加工间隔（高尔基体顺面膜囊），然后进入下一个间隔（中间间隔，由中间膜囊构成），最后进入反面的间隔区，完成整个糖基化过程。高尔基体反面间隔区的腔是与反面网状结构相通的，蛋白质在反面网状结构中被包转进不同的运输泡中运往最终的目的地——质膜、溶酶体或者分泌泡中。

寡糖加工过程的不同步骤相应地在高尔基体的不同间隔中进行，每一种膜囊包含一种特征性的加工酶。蛋白质在从膜囊到膜囊穿越高尔基体堆叠的过程中经过连续地修饰，因此这些堆叠形成了一个多阶段的加工单位。这中间隔化好像是没有必要的，因为每一种寡糖加工酶只能接受经过前一种酶正确加工的底物。然而加工过程除了生化上有序外在空间上也是有序的：催化前一步骤的酶集中在朝向顺面的膜囊内而催化后面步骤的酶集中在朝向反面的膜囊内。

高尔基体顺面、中间和反面的这种划分，间隔之间的功能差异是通过定位涉及到 *N*-连接的糖链的加工过程的酶与细胞器的不同区域而被发现的，利用了物理分离和电镜下观察用抗体标记的酶两种方法。例如，甘露糖残基的去除和 *N*-乙酰葡（萄）糖胺的添加发生在中间间隔区，而半乳糖和唾液酸的添加发生在反面间隔和反面网状结构中（图 13-28）高尔基体的功

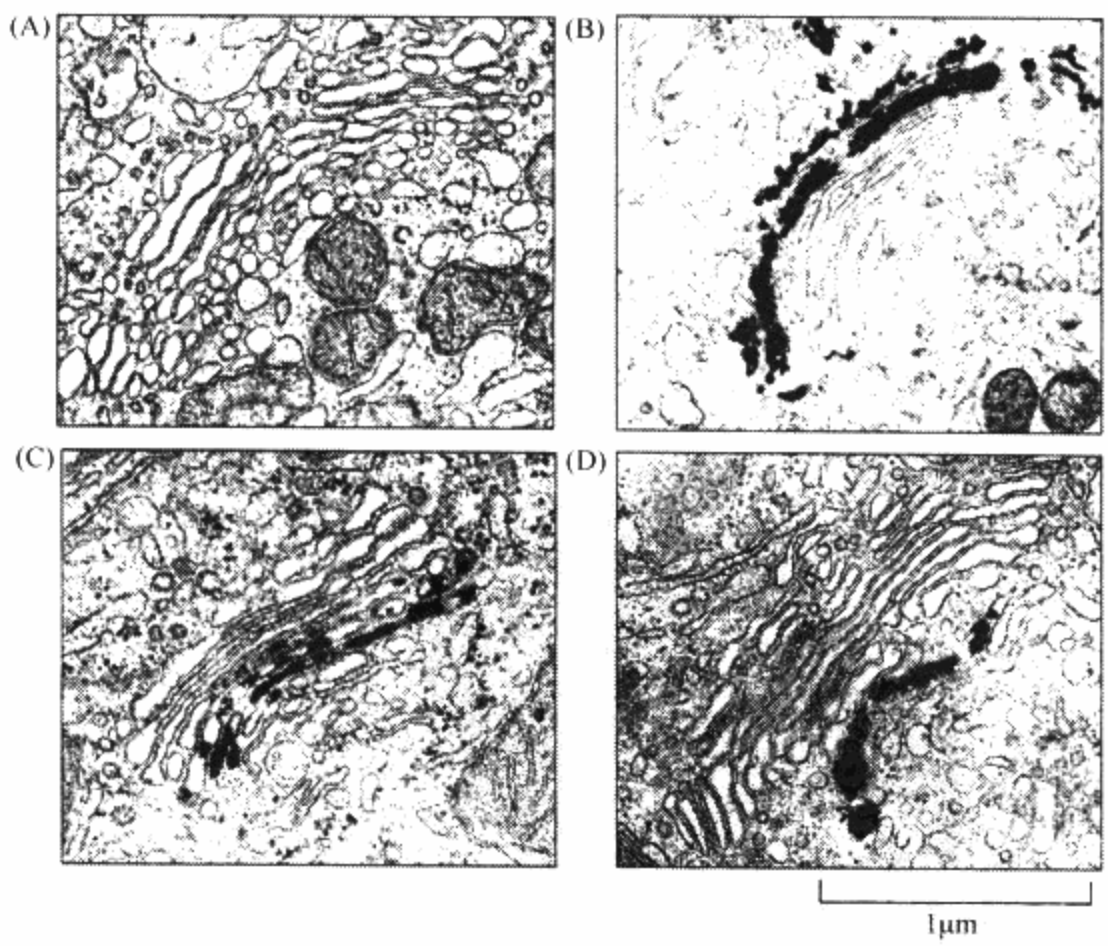


图 13-28　组织化学染色下显示出了高尔基体的生化间隔化

高尔基体的一系列电镜图（A）未染色；（B）高尔基体的顺面膜囊被饿酸特异地染色；（C）和（D）的染色显示出了特异的酶的定位。核苷二磷酸酶存在于反面网状结构。（C）核苷磷酸酶存在于反面网状结构。（D）不止一种膜囊被染色说明酶在一种膜囊富集但不是全部存在于此（由 Daniel S. 惠赠）

能间隔总结在图 13-29。

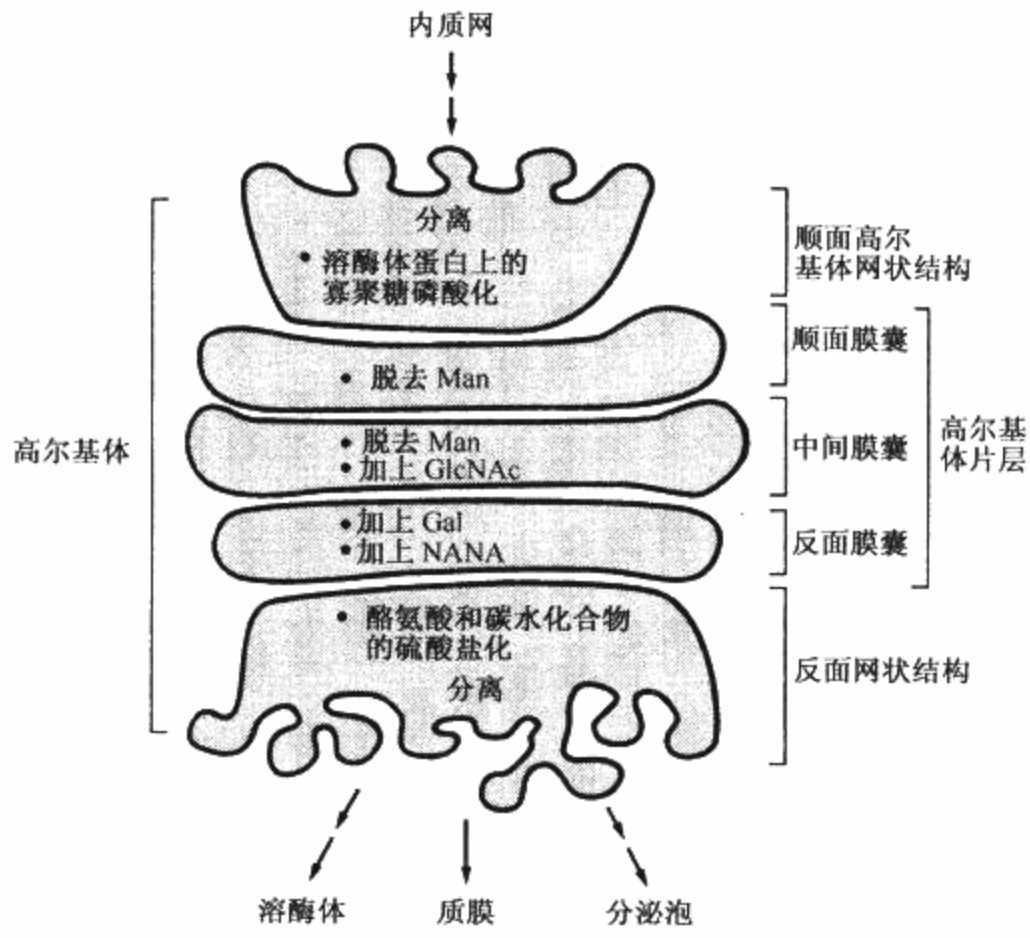


图 13-29　高尔基体的功能区域化

每一加工步骤的定位都是由多种技术联合确定的，包括高尔基体膜的生化分级分离和用抗体特异性的标记反应酶，染色后的电镜观察。许多其他的反应发生的位置还不能确定。尽管目前只能区别开 3 种膜囊间隔，但是每一种基本都是由两或三个序列膜囊构成。很可能每一步反应并不是完全限定在一种特定的膜囊中但是反应的分布是有梯度的，催化早期反应的酶大部分分布在高尔基体顺面膜囊，而催化晚期反应的酶大部分分布在高尔基体反面膜囊

高尔基体堆叠的功能和结构划分提出了两个问题。分子是怎样被从一种膜囊运到另一种膜囊的？高尔基体滞留蛋白是怎样停在合适的位置的？

高尔基体中的运输可能是通过囊泡或高尔基体的成熟完成的

目前还不能确定高尔基体是如何确立并维持它的极性化结构的以及分子是怎样从一个膜囊运到另一个膜囊的。体外转运分析提供的一些证据和高尔基体膜囊附近发现的大量的囊泡是我们起先认为是这些囊泡在膜囊之间运输蛋白质，从一个膜囊上出芽并于下一个膜囊融合。根据这种**囊泡运输模型**，高尔基体是一种相对静态的结构，催化反应的酶处于一定的位置而被运输的分子由囊泡携带着顺序地通过膜囊［图 13-30(A)］。逆行囊泡捕获逃逸的内质网和高尔基体蛋白将它们送回到先前的间隔。前进的转运物分子被选择性的包装进向前行进的囊泡中而需要返回的蛋白质被选择性地包装进逆行囊泡中，方向性运输就是这样的。

尽管两种类型的囊泡很可能都是 COP Ⅰ包被的，但是包被可能包含不同的接头蛋白以选择性地将转运物分子包装在其中。另一种可能性是在囊泡之间穿梭的囊泡不具有方向性，运载着转运物分子在其中任意的往返；由于高尔基体顺面囊腔连续地输入和反面囊连续地输出才使运输具有了方向性。无论是哪一种情况，囊泡从一个囊腔到其邻近囊腔的移动都得到一种巧妙机制的协助：出芽囊泡通过限制其运动的丝状蛋白串联，因而有利于和正确的膜状靶的融合。

根据另一种叫做**膜囊成熟模型**的假说，高尔基体被看作是一种动态结构，膜囊自身沿着高尔基体堆叠运动。来自内质网的膜囊管状簇于其中一个融合形成高尔基体顺面网状结构，这一网状结构在继续成熟变成高尔基体顺面膜囊，然后成为中间膜囊，以此类推下去。因此顺面膜囊在高尔基体的顺面连续形成，然后在成熟的过程中沿着高尔基体堆叠前进[图 13-30(B)]。这个模型有电镜观察证据支持，成纤维细胞中大杆状胶原蛋白和某些藻类中的鳞屑（它们太大而不适于典型的囊泡）是沿着高尔基体堆叠前进的。

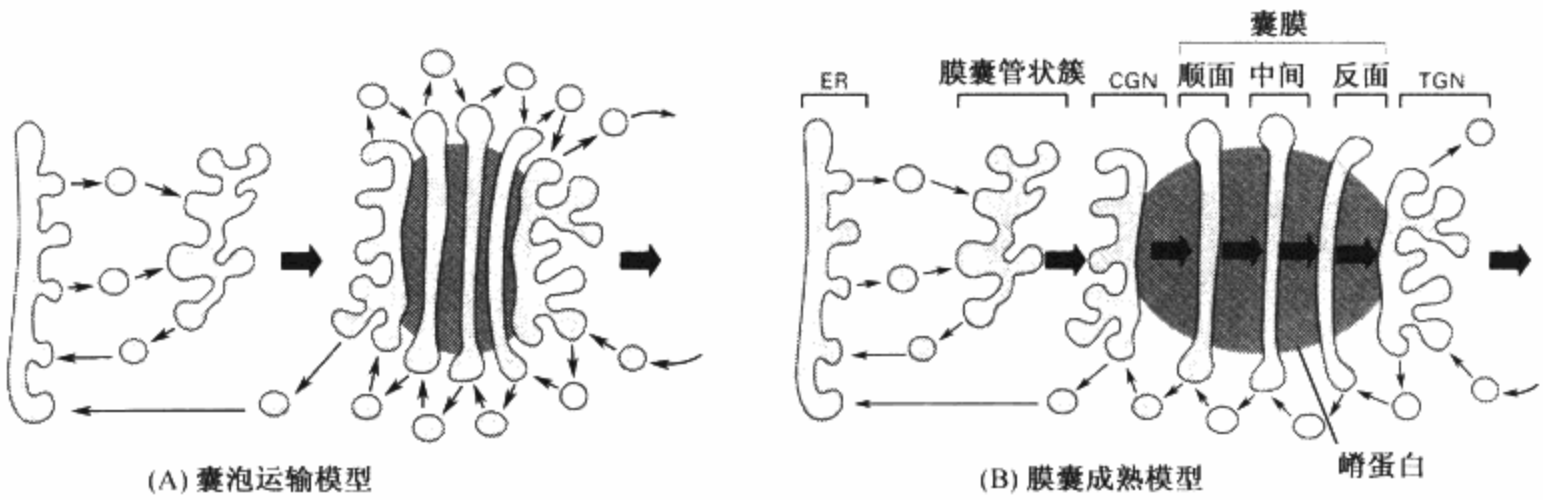


图 13-30　解释高尔基体的组织和蛋白质在膜囊之间运输的两种可能的机制

很可能高尔基体中向前（红色箭头）的运输涉及两种模型。(A) 在囊泡运输模型中，高尔基体膜囊是含有特征的滞留酶的一种静态的细胞器。物质在高尔基体中的运输是通过沿着顺面到反面的囊泡的运输完成的，这些囊泡从一种膜囊上出芽形成并与另一膜囊融合。(B) 根据另外的膜囊成熟模型，每一种膜囊在它沿着堆叠前进的过程中成熟。在每一阶段，被带到前面的高尔基体酶都由 COP I 包被的囊泡带回到早期间隔区。例如，当一个新形成的囊泡前进到中间位置时，属于顺面的酶就会被排出来并被转运到后面新形成的顺面膜囊中。与此类似，属于中间膜囊的酶将会被从前面的膜囊逆行运回来。顺面膜囊用这种方式运动到中间膜囊进一步成熟

在成熟模型中，高尔基体酶的特征分布可以用逆行运输流来解释。所有的成分都随着成熟过程中的囊泡连续地前进，包括属于早期高尔基体的酶，但是 COPI包被的囊泡出芽将连续地回收这些酶，它们大部分是膜蛋白，并把它们带回到它们发挥功能的前面的膜囊。一个新形成的顺面膜囊将接收这些来自于前面的膜囊的酶并且会将它们传到下一个新形成的膜囊上。

后面我们会讨论，当一个膜囊最终运动到成为高尔基体反面网状结构的一部分的时候，各种类型的包被囊泡将从其上出芽形成直到这种网状结构消失，后面的一个成熟的膜囊将代替其位置。与此同时，其他一些囊泡将连续的回收先前的高尔基体的膜并将它们运往高尔基体反面网状结构。

囊泡运输模型和墨囊成熟模型并不是相互排斥的。实际上，有证据表明，运输泡的形成可能是这两种机制共同作用的结果。许多转运物分子被囊泡携带着快速运输，而另一些转运物在高尔基体通过膜囊成熟连续地更新的过程中前进得比较慢。

基质蛋白形成一个帮助高尔基体组织的动态的结构支架

高尔基体的独特的结构依赖与前面所讨论过的细胞骨架的微管和细胞质高尔基体基质蛋白两部分。高尔基体基质蛋白在相邻的膜囊之间形成一个结构支架，使高尔基体堆叠保持结构的完整性。许多基质蛋白形成长的、纤维状的绳索状结构，可能有助于使高尔基体的囊泡不能远离高尔基体。当细胞准备分裂的时候，基质蛋白激酶将基质蛋白磷酸化，这使得高尔基体片段化并在胞质中散布开来。在高尔基体去装配的过程中，高尔基体中的酶被囊泡带回内质网而高尔基体片段被分派到两个子细胞中。在子细胞中，高尔基体基质蛋白去磷酸化使

高尔基体重新装配。

值得注意的是，即使在实验中阻止高尔基体膜蛋白离开内质网，高尔基体基质蛋白也能在中心体附近合适的位置装配起来。这表明高尔基体基质蛋白很有可能对高尔基体的结构和定位都起作用。

小结

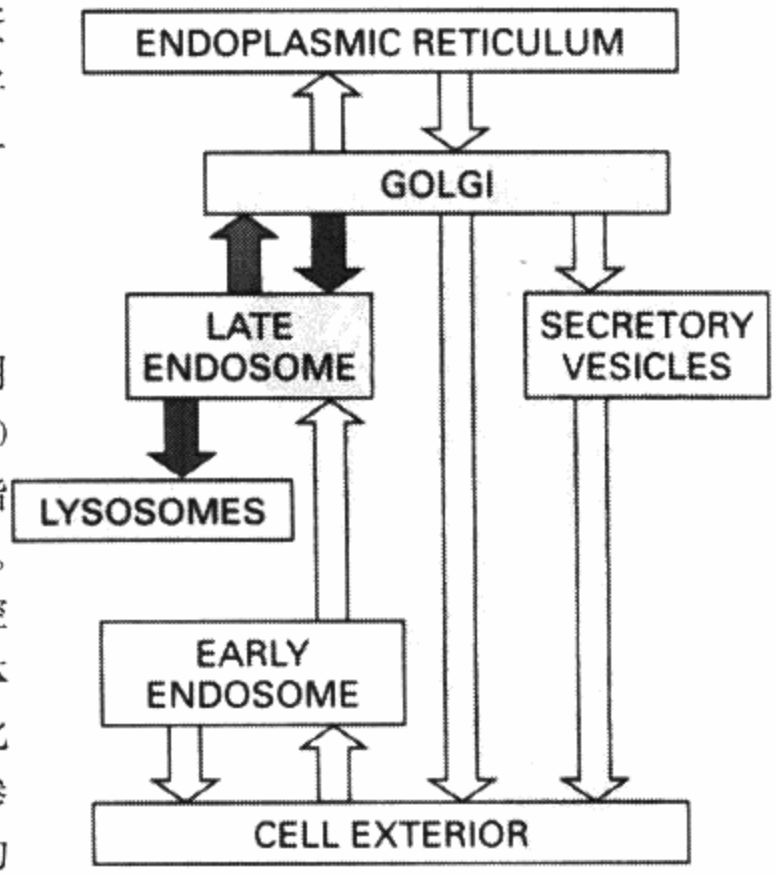
正确折叠和组装的蛋白质被包装进从内质网膜上出芽的COPⅡ包被的囊泡中。出芽后不久包被脱去，囊泡彼此融合形成囊泡管状结构簇，它沿着微管运动到达高尔基体。许多内质网滞留蛋白也会慢慢的逃逸，但又会被COPⅠ包被的囊泡通过逆行运输将它们从囊泡管状结构簇和高尔基体带回到内质网。

不同于内质网，高尔基体中有许多核苷酸单糖，在脂类和蛋白质穿过高尔基体的过程中，高尔基体中的各种的糖基转移酶以核苷酸单糖将它们糖基化。内质网中加入蛋白质上的*N*-连接的寡糖链通常先被除去甘露糖，然后再添加其他糖。此外，*O*-连接的糖基化也发生在高尔基体中，糖胺聚糖被连接到核心蛋白上形成蛋白聚糖。蛋白聚糖上的单糖的硫酸化和蛋白质上的某些苏氨酸残基的硫酸化在晚期高尔基体间隔中进行。

高尔基体将内质网中运来的蛋白质和脂类分门别类地运往质膜，溶酶体和分泌泡中。它是由一到多个盘状的膜囊堆叠形成的一种有极性的结构，每一堆叠都是由一系列至少三个不同的称为顺面膜囊、中间膜囊和反面膜囊的功能区组织而成的。顺面膜囊和反面膜囊分别与称为顺面网状结构和反面网状结构的分选部位相通。蛋白质和脂类沿着堆叠由顺面到反面的方向运动。这可能是通过囊泡运输，顺面膜囊沿着堆叠前进的成熟过程或者通过两者的结合实现的。在堆叠的每一特定部位起作用的酶通过逆行运输泡从前一囊泡带回而被保持在起作用的部位。蛋白质在反面网状结构完成包装，再被包装进囊泡中运往细胞中特定的目的地。

从高尔基体反面网状结构到溶酶体的运输

除了高尔基体滞留蛋白外，所有穿过高尔基体的蛋白质都要根据它们最终的目的地在高尔基体反面网状结构进行筛选。运往溶酶体的蛋白质的筛选机制了解的尤为清楚，在这一部分将要讨论这一选择性运输过程。首先简要地介绍一下溶酶体的结构和功能。



溶酶体是细胞内消化的主要部位

溶酶体是单层膜围绕的、内含水解酶类，用来进行细胞内消化作用的细胞器。它含有大约40多种水解酶，包括蛋白酶、核酸酶、酯酶、磷脂酶和硫酸酶等，其共同特征是都属于**酸性水解酶**。为了使这些酶发挥最佳活性，溶酶体将pH只控制在5.0左右。溶酶体膜将水解酶限制在溶酶体中，这就为防止细胞脂内含物被自身水解酶消化提供了双重保障，即使这些水解酶从溶酶体中渗漏出来，它们在胞质pH为7.2的环境下所起的

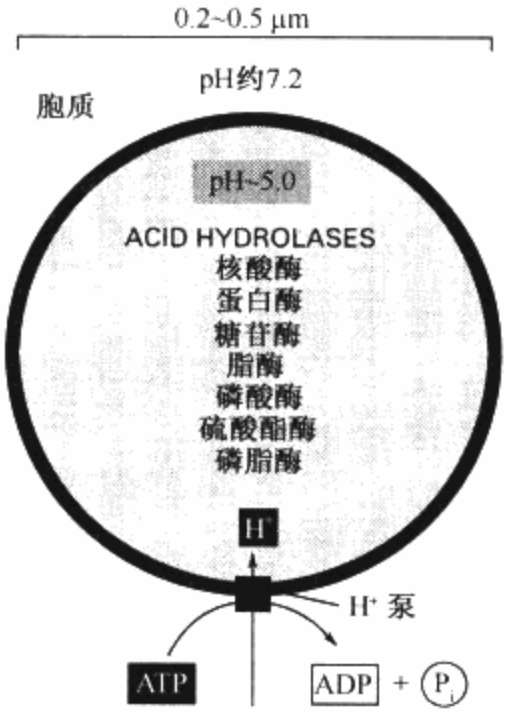


图 13-31　溶酶体

酸性水解酶是在酸性环境下起作用的酶。溶酶体膜上的质子泵将 H^+ 泵入溶酶体内以维持其酸性的内环境

破坏性作用也很小。

溶酶体不仅与细胞内的其他细胞器一样，包含许多独特的酶，它的膜也是很独特的。膜上的载体蛋白将大分子的最终消化产物（如氨基酸、单糖和核苷酸）运出到胞质中，最终排出体外或被细胞重新利用。溶酶体膜上的质子泵借助水解 ATP 释放的能量将 H^+ 泵入溶酶体内以维持其酸性的内环境（图 13-31）。一种液泡 H^+ ATPase 具有相似或相同的作用，可能用于维持许多涉及内吞和胞吐途径的细胞器，包括溶酶体、胞内体、高尔基体分选区域和许多运输机分泌泡的酸性内环境。大多数膜蛋白是高度糖基化的，这有助于防止自身膜蛋白的消化。

溶酶体是一种异质性细胞器

溶酶体最初是在用差速离心法分析细胞组分时发现的，然后才在电镜下观察到。溶酶体的形状和大小各异，但特异的抗体标记的显色鉴定它们属于同一家族的成员。也可以通过组织化学的方法加以鉴定，利用酸性水解酶作用于底物产生的沉淀来显示含有这种水解酶的细胞器（图 13-32）。以此为依据，溶媒体存在与所有的真核细胞中。

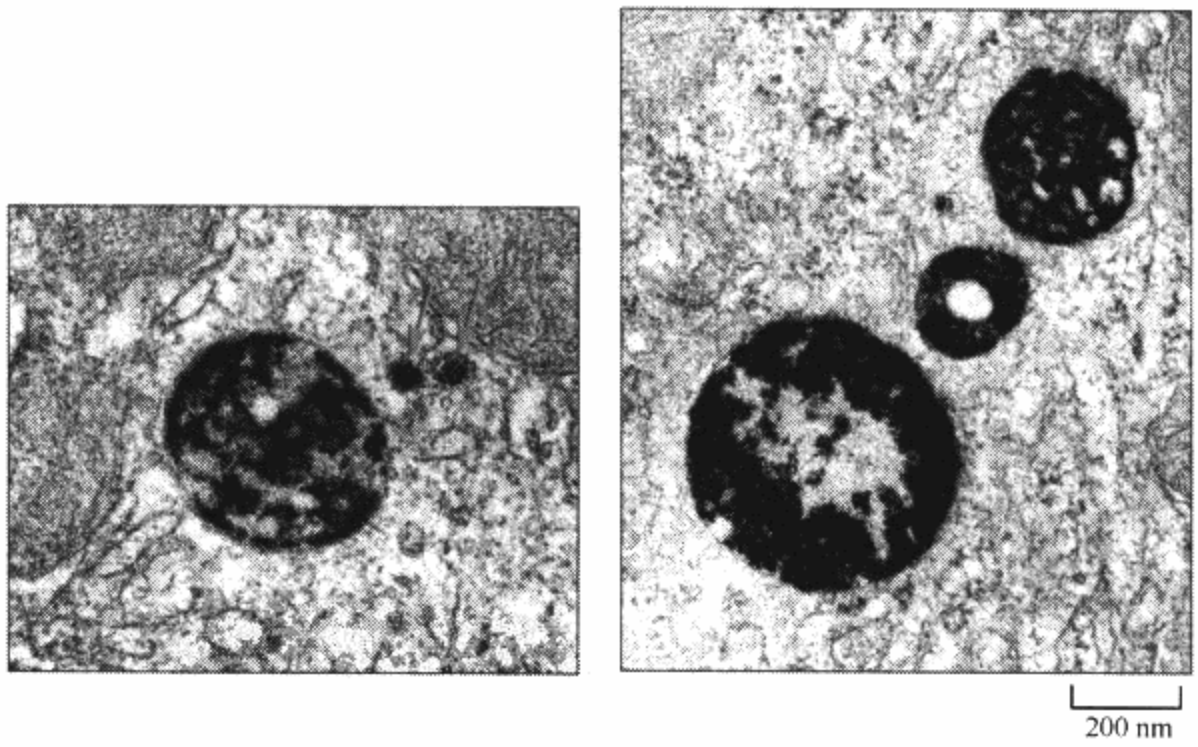


图 13-32　溶酶体的组织化学染色观察

这两张细胞区域电镜图显示的是溶酶体的一种标志酶——酸性磷酸酶的定位。较大的、膜包被的、高密度的磷酸铅沉淀的细胞器就是溶酶体。沉淀是用戊二醛固定的组织在有铅离子存在时与一种磷酸化的底物共温育产生的。它们不同的形态反映了它们所消化的物质的数量和性质的不同。有两个来自于高尔基体的，可能运输酸性水解酶的囊泡在左图中用红色箭头标出（经 Daniel S. 许可）

溶酶体形态的多样性与其他结构相对一致的细胞器形成对照。这种形态的多样性反映了酸性水解酶功能的多样性，包括对细胞内外的废弃物的消化，对被吞噬的微生物的消灭以及为细胞提供营养。因此可以被看作是以含有大量酸性水解酶为共同特征的、执行不同功能的一类异质性的细胞器。我们后面会讲到，在植物细胞中更难为溶酶体下定义。

植物和真菌的液泡是多样性的溶酶体

大多数植物和真菌（包括酵母）细胞中都含有一到几个非常大的、充满液体的囊泡，被称为**液泡**。在90%的不同种细胞中，液泡占据了细胞30%的体积（图13-33）。液泡和动物细胞的溶酶体类似，也含有大量的水解酶，但是它们的功能有显著的不同。它们可以作为营养和废弃物的储存器官，作为消化的区室，一种增加细胞体积的有效的方式（图13-34），或者膨胀压（作用于细胞壁防治植物萎蔫的渗透压）的调节器。一个细胞中常常存在着不同功能（如消化和储存）的液泡。

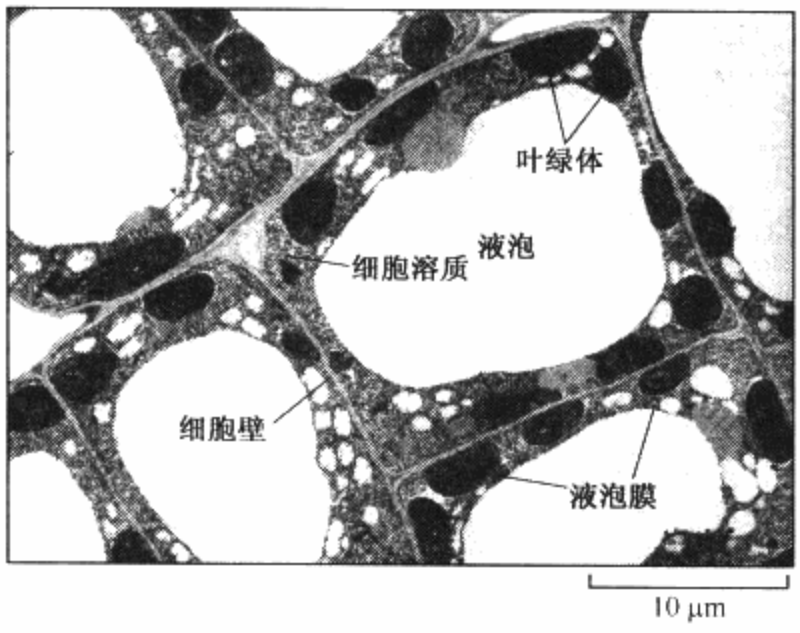


图13-33　植物细胞的液泡

幼年番茄叶细胞的电镜图，细胞质是很薄的一层，内有叶绿体。巨大的液泡挤压着细胞壁。液泡的膜称之为液泡膜

（经J. Burgess许可）

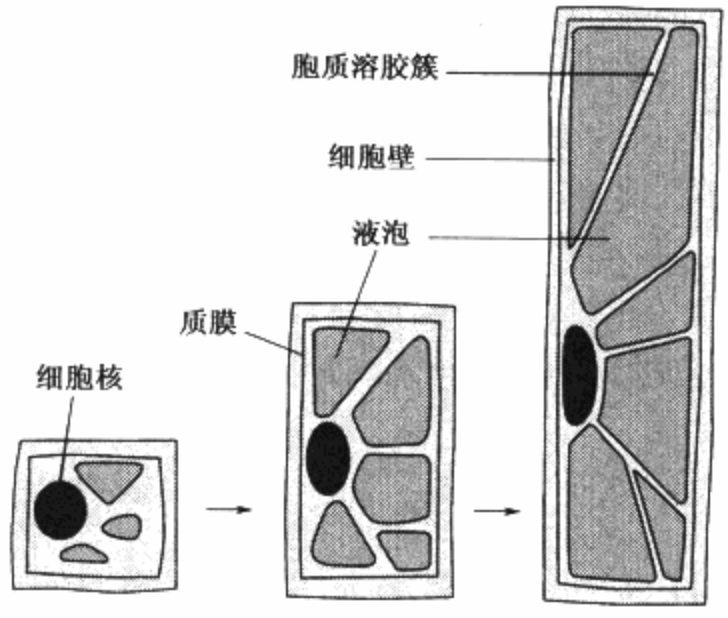


图13-34　液泡在控制植物细胞大小中的作用

细胞可以在不增加胞质体积的情况下增加细胞体积。细胞壁的局部弱化致使膨压驱动细胞体积增大，同时伴随着水被摄入正在扩增的液泡。胞质溶胶最终被局限在外周很薄的一层，与核区相连，由肌动蛋白簇固定下来

植物细胞的液泡对植物细胞的动态平衡非常重要，增加了植物细胞对外界多变的环境的抵抗。当外界环境的pH降低时，液泡可以通过膜上的质子泵将H^+泵入其内以调节胞质内的pH的恒定。与此类似，许多植物细胞在胞外液体的渗透压有大的改变时能维持基本恒定的膨胀压，这是通过液泡渗透压的改变实现的。一方面是由于对液泡中的如多磷酸盐的多聚物的消化和重新合成的调节；另一方面是通过改变单糖、氨基酸和其他代谢物穿过质膜、液泡沫的运输速度。膨胀压通过调节膜上不同的运输蛋白的活性来调节这些通量。

储存在不同物种植物液泡中的物质常常被人类加以利用：从橡胶到鸦片到调味品大蒜都与人类关系密切。许多液泡中的储存物质都可以被代谢加以利用。例如，在许多种子，如豌豆和蚕豆的储存细胞的液泡中的蛋白质，当种子萌发时这些蛋白质可以被水解成氨基酸供胚胎发育的营养。储存在植物液泡中的花青素使花瓣着色以吸引为其传粉的昆虫，而当植物被吃掉或破坏时，液泡中释放的毒素分子为植物提供一种防御机制。

物质运输到溶酶体的多条途径

溶酶体通常是多条胞内运输途径的交汇处。消化酶是通过从内质网起始的，穿过高尔基体的路径运到溶酶体中的，而被消化的物质依赖于它们的来源至少有三种不同的途径运来。

在这些不同的途径中研究得最多的是通过胞吞作用运来的生物大分子的消化。后面会详

细讨论，通过囊泡运来的胞吞分子最初被运往性状不规则的被称为早期胞内体的细胞器中。这其中的许多分子又被选择性地运回到到质膜重新利用，其余的被运往**晚期胞内体**。晚期胞内体中有从高尔基体运来的溶酶体水解酶，其温和的内环境（pH～6）使之成为胞吞分子首先被开始消化的地方。成熟的溶酶体是由晚期胞内体 pH 进一步降低形成的。现在认为溶酶体是通过一个逐步成熟的过程产生的，在这一过程中许多蛋白质被逆行运输泡运回到胞内体或运到反面高尔基体网状结构中。

另一种发生在溶酶体中的消化是所有细胞中都有的叫做自噬的消化细胞自身的废弃物的过程。例如，在肝细胞中，线粒体的平均寿命是 10 天。正常细胞的电镜图下我们可以看到包含线粒体和其他细胞器的溶酶体。这一过程首先是一种不清楚的膜将细胞器包住，形成自噬体，然后自噬体与溶酶体或晚期胞内体融合。这一过程是受到严格的调节的，某些细胞内组分可以被用来标记细胞重构过程中溶酶体的消化作用。例如，肝细胞在对抗苯巴比妥（讨论见第 12 章）的过程中光面内质网激增，但在药物被出去后就会被自噬作用选择性地除去。

后面我们会讨论，将物质运到溶酶体中消化的第三条途径主要在一些吞噬大的颗粒和微生物的细胞中发现。这些细胞（巨噬细胞和嗜中性粒细胞）将物质吞入形成吞噬体，然后通过自噬体的方式转入溶酶体中。这三种途径总结在图 13-35 中。

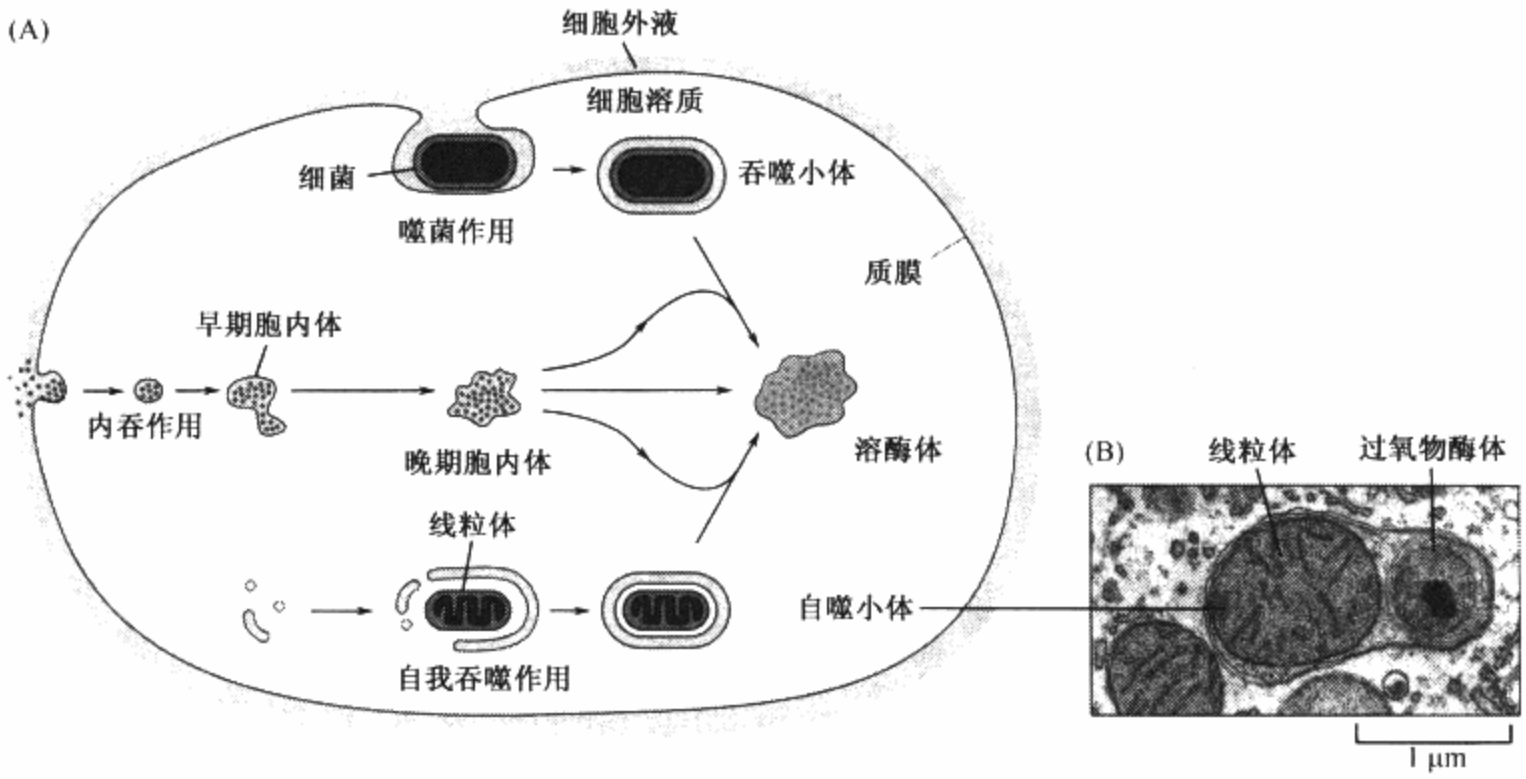


图 13-35　三种将物质运到溶酶体中消化的途径

（A）每一种途径都使不同来源的物质在细胞内消化。（B）一个包含线粒体和过氧化物酶体的自噬体的电镜图（经 Daniel S. 许可。摘自 D. W. Fawcett, A Textbook of Histology, 12th edn. New York: Chapman and Hall, 1994）

6-磷酸甘露糖受体识别反面高尔基体网状结构中的溶酶体蛋白

现在我们探讨将溶酶体水解酶和膜蛋白运到溶酶体的途径。这两种蛋白都是在内质网中合成并通过高尔基体反面网状结构得到分选的。将这些蛋白质运到晚期胞内体（溶酶体前体）的囊泡在高尔基体反面网状结构中出芽形成，这些囊泡将溶酶体蛋白包装入内但将运往其他目的地的蛋白质排除在外。

溶酶体蛋白在高尔基体反面网状结构中是怎样被准确识别和选择的呢？对溶酶体水解酶来说，答案已明了。这些可溶性的酶在通过高尔基体顺面网状结构的囊腔时其 *N*-连接的寡糖链上都带被加上了一个特殊的 6-磷酸甘露糖（M6P）的标记（图 13-36）。M6P 被反面网状结

构中跨膜的 M6P 受体蛋白所识别。受体蛋白在囊腔侧与溶酶体水解酶结合，在胞质侧与网格蛋白胞被的结合素蛋白结合。这就将水解酶包装进网格蛋白包被的、从高尔基体反面网状结构出芽的囊泡中，随后运往晚期胞内体。

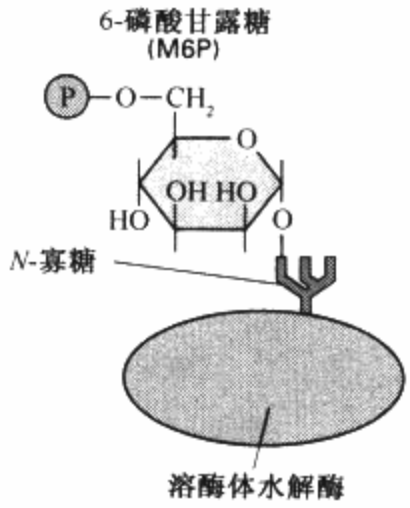


图 13-36　一个溶酶体酶上的 6-磷酸甘露糖受体的结构

M6P 受体在特异的膜之间穿梭

高尔基体反面网状结中的 M6P 受体在 pH6.5～7.5 的环境下与特异的寡糖链结合，在晚期胞内体的 pH6 的环境下释放。在晚期胞内体中，溶酶体水解酶与其受体解离，随着胞内体成熟过程中 pH 的进一步降低，溶酶体开始消化来源于早期胞内体的胞吞物质。M6P 受体在与其结合的酶解离后被逆行运输泡运回到高尔基体反面网状结构中重新利用（图 13-37）。M6P 受体两种方向的运输都需要利用其胞质尾部的信号肽。因此，M6P 受体的重新利用和前面讨论过的 KDEL 受体的重新利用相似。并不是所有的被标记有溶酶体水解酶的运往溶酶体的水解酶都被正确的运到。有一些在高尔基体反面网状结中逃脱正常的包装途径被运往细胞表面并被分泌到细胞外。然而，许多 M6P 受体也绕道去了质膜，它们通过受体介导的胞吞途径将水解酶重新捕获，经过早期胞内体和晚期胞内体运往溶酶体。因为水解酶活性的发挥需要一个酸性的环境，所以它们在胞外中性的 pH 环境中也起不到什么破坏作用。

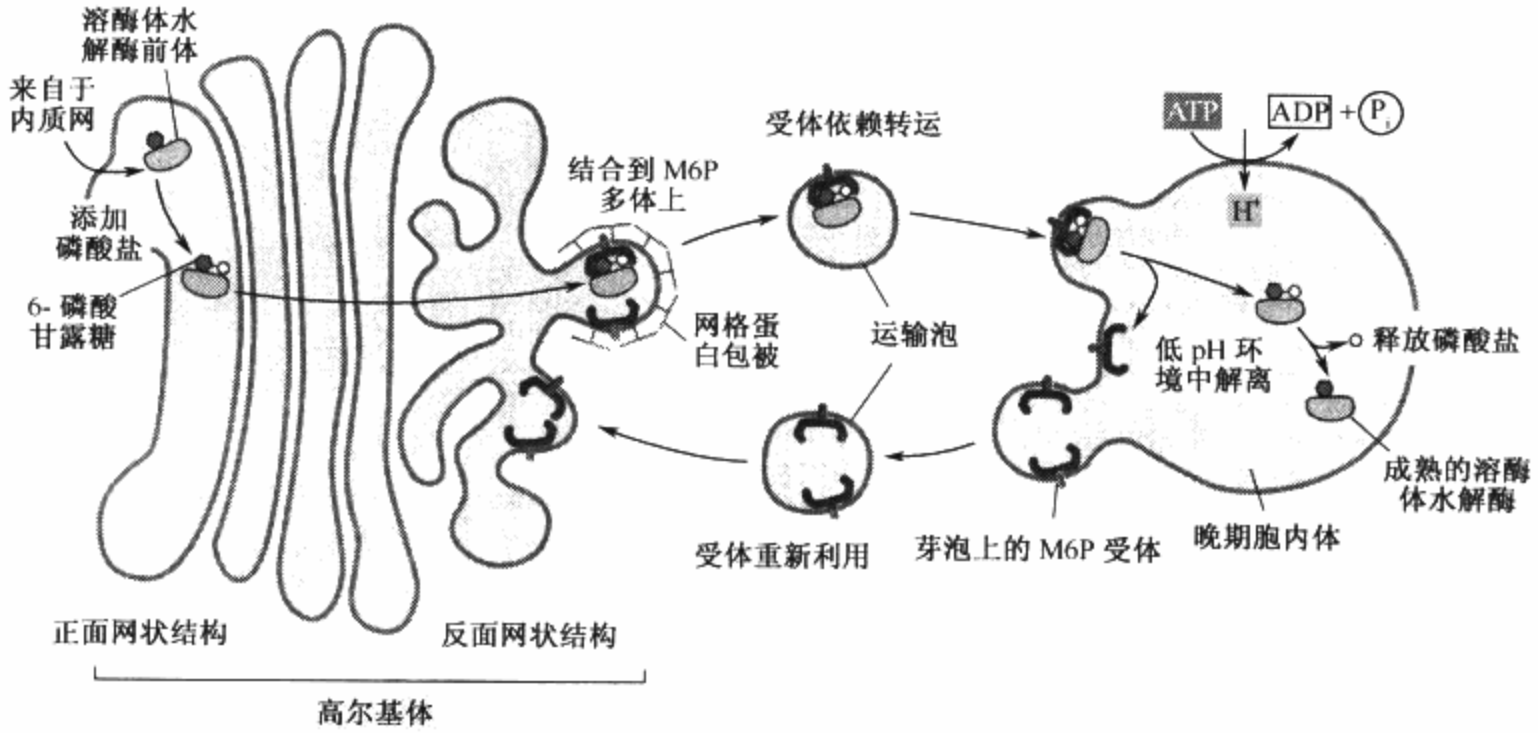


图 13-37　新合成的溶酶体水解酶到溶酶体的运输

在高尔基体顺面网状结构中溶酶体水解酶前体加入 M6P 而被共价修饰。在高尔基体反面网状结构中，水解酶解结合到 M6P 受体上，而受体又与包被蛋白上的结合素蛋白结合在一起，这就使水解酶与其他的蛋白质分离开来。COP I 包被的囊泡从反面网状结构出芽并与晚期溶酶体融合。在晚期胞内体低 pH 的环境中，溶酶体水解酶与其受体解离，M6P 受体被逆行运输泡运回到高尔基体反面网状结构中重新利用，而晚期胞内体内的磷酸酶将水解酶甘露糖上的磷酸水解，这进一步保证了水解酶不被受体再带回到高尔基体中

溶酶体水解酶的一个信号区提供 M6P 添加的信号

筛选系统之所以能高效地将溶酶体水解酶分出来并运往晚期溶酶体是因为 M6P 在高尔基体中只被加到合适的糖蛋白上。这就需要高尔基体酶对水解酶的特异识别。因为所有离开内

质网的糖蛋白都带有相同的 *N*-连接的寡糖链，所以添加 M6P 的信号一定存在与每一种水解酶的多肽链上。遗传学实验证明识别信号是存在与蛋白质表面的一些相邻的氨基酸组成的一个信号区。两种酶有序地催化 M6P 添加到溶酶体水解酶上。第一种酶是 GlcNAc 磷酸转移酶，它特异地结合水解酶并将 GlcNAc-P 添加到每一个寡糖链的一个或两个甘露糖上(图 13-38)。另一种酶则将 GlcNAc 去除形成 M6P 的标记。因为大多数溶酶体水解酶都有多条寡糖链，因此形成很多的 M6P 残基，为 M6P 受体提供了高亲和性的信号。

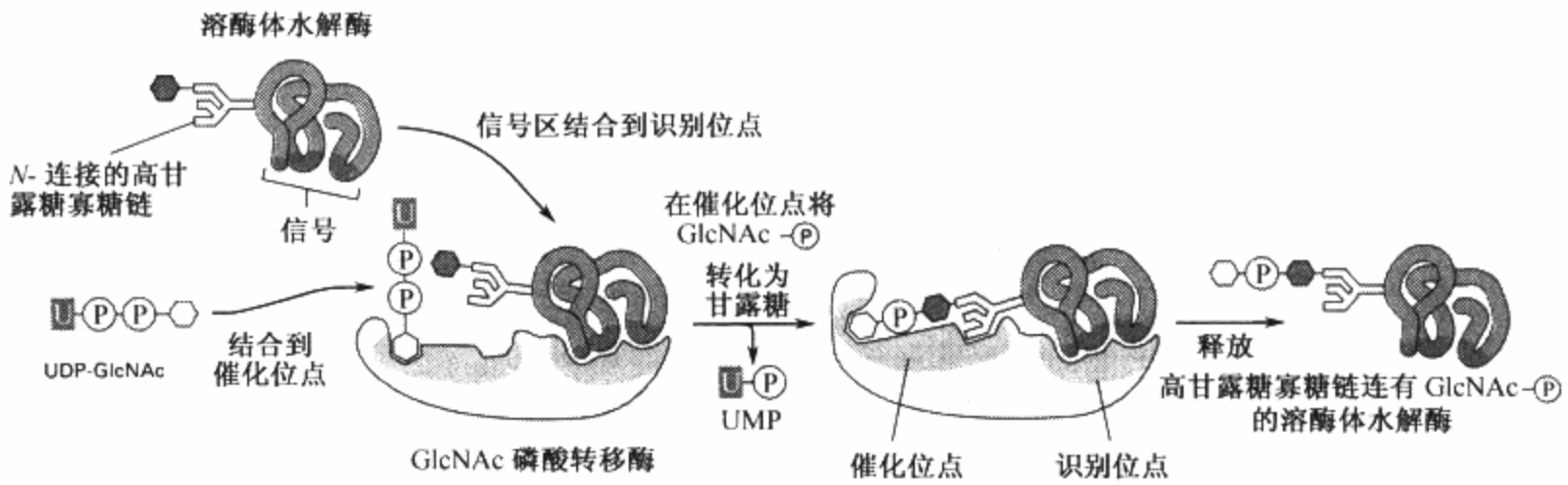


图 13-38　溶酶体水解酶的识别

在高尔基体中识别溶酶体水解酶的 GlcNAc 磷酸转移酶有独立的催化和识别位点。催化位点结合 *N*-连接的高甘露糖寡糖链和 UDP-GlcNAc，识别位点结合到水解酶表面的信号区。GlcNAc 被另一种酶去除使 M6P 暴露出来

GlcNAc 磷酸转移酶的缺失引起人类一种溶酶体贮积病

溶酶体贮积病是影响一到多种溶酶体水解酶的遗传缺陷造成的。这种缺陷使得不能被消化的物质在细胞中积累引起了严重的病理现象，大多数发生在神经系统中。大多数情况下，编码溶酶体水解酶的单基因突变引起的疾病，例如，Hurler's 是由消化糖胺聚糖的酶的缺陷或缺失造成的。然而，最严重的溶酶体贮积症是一种非常罕见的叫做细胞内含物病（inclusion-cell disease，I-cell disease）的疾病。在这种疾病中，纤维原细胞溶酶体中的几乎所有的水解酶都缺失了，不能被消化的底物聚集在溶酶体中，形成了患者细胞中大的“内含物”。

I-cell 疾病是由于单个基因的缺失造成的。像许多遗传缺陷一样，这种病是隐性的，即只有当两个等位基因都有缺陷时才会使人体治病。患这种病的人的溶酶体水解酶在血液中。因为它们不能在高尔基体中被正确筛选而被分泌到了细胞外。我们已经对缺陷或缺失的GlcNAc磷酸转移酶的错误筛选进行了跟踪。因为它在高尔基体顺面网状结构中没有被磷酸化，因此，在高尔基体反面网状结构中不能被 M6P 受体识别包装进正确的囊泡中，而是被运到了细胞表面分泌到了细胞外。

在一些 I-cell 疾病细胞的溶酶体中，如肝细胞的溶酶体中却发现有正常的溶酶体水解酶。这表明在这些细胞中还有一条一般细胞不具备的运输途径将水解酶运到溶酶体中。目前这一不依赖于 M6P 受体的途径的机制还不清楚。溶酶体的膜蛋白在所有的细胞中都以不依赖于 M6P 受体的途径从反面网状结构运到晚期胞内体，因此在 I-cell 疾病的细胞中它们是正常的。在反面网状结构中运输它们的囊泡与 M6P 受体介导的不同。

可溶性的和膜结合的蛋白质需要不同的筛选途径，这并不足为奇，尤其是膜蛋白与 M6P 受体不同，它是溶酶体滞留蛋白因此不需要再被运回到反面高尔基体。但是溶酶体的构建为什么需要不止一中筛选途径仍然不清楚。

溶酶体也可能经历胞吐途径

将物质运到溶酶体并不一定就是运输的结束。溶酶体将未消化的物质分泌（也叫净化）到胞外使细胞除去了这些未消化的废物。对大多数细胞来说，这似乎是一个次要的途径，只有当细胞在受到压力时才发生。然而在一些类型的细胞中含有特殊的能与质膜融合的溶酶体。例如，皮肤中的黑色素细胞分泌色素并将它们储存在溶酶体中，这些细胞通过胞吐作用将色素释放到胞外被角朊细胞吸收，以维持皮肤的正常颜色。在许多遗传疾病中，由于黑色素细胞胞吐作用有缺陷使黑色素不能转移到角朊细胞中造成色素沉着不足（白化）。

小结

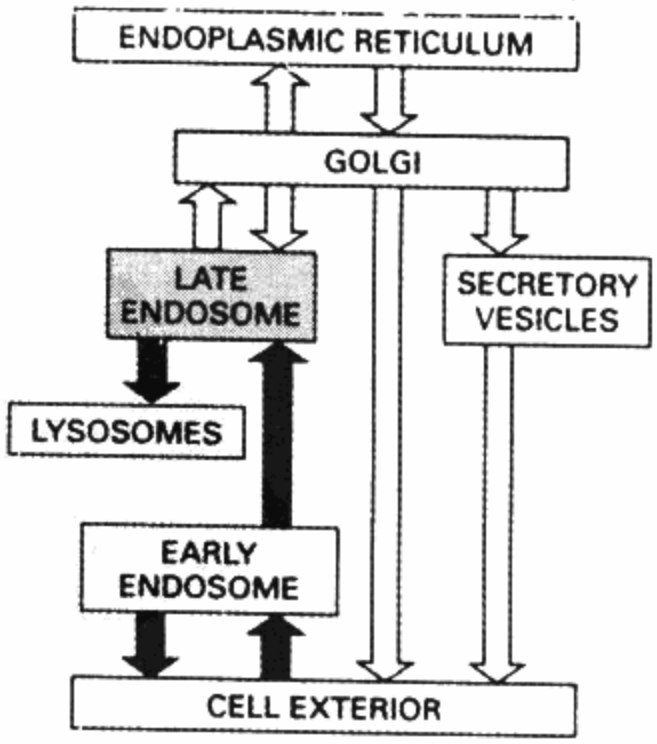
溶酶体的基本功能是对生物大分子的消化作用。溶酶体的膜是很独特的，溶酶体内含有多种水解酶类，这些酶发挥最佳活性的 pH 在 5.0 左右，这样低的 pH 是通过溶酶体膜上的 ATP 驱动的质子泵维持的。新合成的溶酶体蛋白转移到内质网腔中，穿过高尔基体然后由 COP Ⅰ 包被的囊泡从反面网状结构运到晚期胞内体。溶酶体水解酶的 *N*-连接的寡糖链在高尔基体顺面网状结构中被特异的共价修饰以使其甘露糖残基被磷酸化。M6P 被反面网状结构中的 M6P 受体蛋白所识别。这就将水解酶与其他蛋白质分开并被包装进网格蛋白包被的囊泡中运往晚期胞内体。M6P 受体在高尔基体网状结构和这些胞内体之间穿梭。胞内体中的低 pH 使溶酶体水解酶与其受体解离，这使得水解酶的运输不能再被运回。溶酶体的膜蛋白的运输是通过另一条独立的网格蛋白包被的囊泡运输完成的。

从质膜进入细胞的物质运输：胞吞作用

细胞从胞外吸收生物大分子、颗粒性物质，有些情况下甚至是其他的细胞的**胞吞作用**是物质从细胞外运到溶酶体的这一路径的开始。在这个过程中，将要被消化的物质首先被一小部分质膜包入其内，质膜内陷、出芽形成胞吞泡。胞吞作用根据胞吞泡的大小分为两种基本类型：一种叫做吞噬作用，胞吞物是大的颗粒性物质，如微生物或者死细胞，形成的大的囊泡叫做吞噬泡（直径通常大于 250nm）。另一种叫做胞饮作用，胞吞物是溶液或可溶性分子，形成的囊泡较小，叫做胞饮泡（直径通常在 100nm 左右）。大多数真核细胞都能通过胞饮作用连续的摄入溶液或可溶性分子，而大的颗粒性物质主要是通过特殊的吞噬细胞摄入的。

大的颗粒性物质由特殊的吞噬细胞消化

吞噬作用是将大的颗粒性物质，如微生物或者死细胞通过大的称为吞噬泡的囊泡摄入的一种特殊的**胞吞作用**。对原生动物来说，吞噬作用是一种获取食物的方式：吞噬泡摄入的大的颗粒性物质在溶酶体中消化，消化产物释放到胞质中作为食物利用。然而多细胞生物的细胞很少能够有效的摄入如此大的颗粒。在动物中，食物颗粒在内脏中被消化，水解产物才被运到胞内利用。



吞噬作用在动物中的重要性不在于营养物的摄取而是有其他的重要作用，这是由一些称为胞吞细胞的特殊的细胞执行的。在哺乳动物细胞中有三类吞噬细

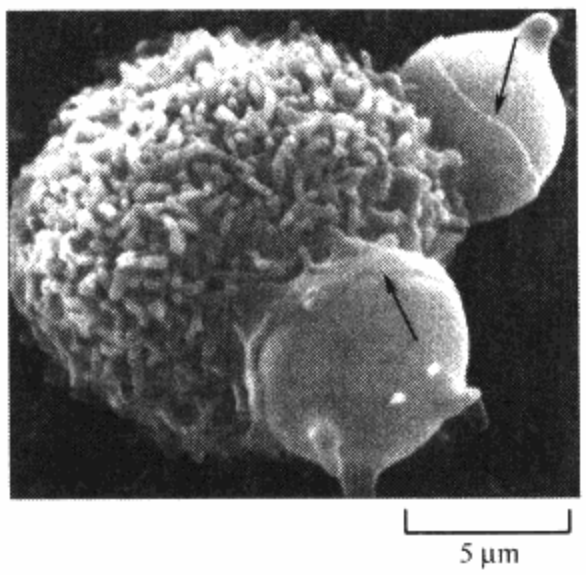


图 13-39　巨噬细胞的胞吞作用

巨噬细胞吞噬两个变异的红细胞的扫描电镜图。红色箭头指的地方是巨噬细胞吞入红细胞时形成的假足的很薄的区域（经 Jean Paul Revel 许可）

胞——**巨噬细胞、嗜中性粒细胞**和**树突状细胞**。这些细胞来源于造血干细胞(讨论见第 22 章)，吞噬入侵的微生物起到防御功能。巨噬细胞对衰老的和已经凋亡的细胞的清除也具有重要的作用(讨论见第 17 章)。就数量而言，后一种作用是目前最重要的。例如，巨噬细胞每天吞噬多于 10^{11} 的衰老的和已经凋亡的细胞。

吞噬泡的大小是由摄入的颗粒的大小决定的，基本上与被吞噬细胞大小差不多，而胞饮泡相对来说要小得多并且形状比较统一（图 13-39）。吞噬泡与细胞内的溶酶体融合从而将摄入的物质消化掉。未被消化的物质残存在溶酶体中形成残余体。进入细胞内的质膜组分到不了溶酶体，因为它们被囊泡从吞噬泡又运回到了质膜。被吞入的颗粒必须首先结合到吞噬细胞的表面才能被吞入，然而并不是所有结合的都被吞入。吞噬细胞表面有大量特异的表面受体已完成吞噬作用。吞噬作用不像是胞饮作用一样是一个连续发生的过程，它是一个信号引发过程，需要受体被激活将信号传递到胞内以起始反应。研究最多的信号处发体是对其防御功能的抗体。抗体结合到入侵微生物的表面形成一个包被，它的尾部的 Fc 区暴露在外面（讨论见第 24 章），然后被巨噬细胞或嗜中性粒细胞表面的 Fc 受体所识别。两者结合后吞噬性细胞伸出假足将颗粒包装入内，最终假足对合形成吞噬泡（图 13-40）。

对一些起始胞吞的其他的受体的研究表明有些能识别与抗体共同识别抗原的补体（讨论见第 25 章），还有一些直接识别一定的微生物表面的多糖，还有的识别凋亡的细胞。这些凋亡的细胞失去了质膜上的磷脂的不对称分布的特性，因此带负电荷的、正常情况下分布于脂双层的胞质小叶的磷脂酰丝氨酸暴露在了细胞表面从而引发了吞噬作用的发生。

值得注意的是，巨噬细胞也能吞噬一些没有活性的颗粒，如玻璃、乳胶粒、石棉纤维，但是却不能吞噬活细胞。看起来活细胞的表面好像有一种“别吃我”的信号蛋白，它结合到巨噬细胞的受体上就能抑制该受体，该抑制受体招募苏氨酸磷酸酶对抗起始吞噬的细胞内信号。因此，吞噬作用也像其他一些细胞过程一样是一个依赖于激活信号和抑制信号之间的平衡的一个过程。

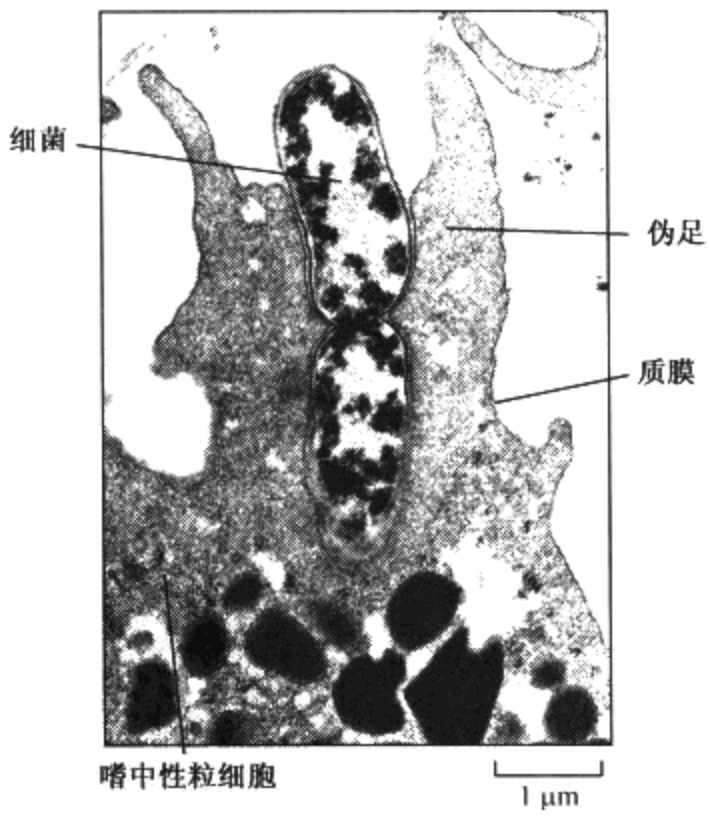


图 13-40　嗜中性粒细胞的胞吞作用

嗜中性粒细胞吞噬一个正在分裂的细菌的电镜图(经 Dorothy F 许可，Bainton，Phagocytic Mechanisms in Health and Disease. New York：Intercontinental BookCorporation，1971)

胞吞泡由质膜上的有被小窝形成

实际上所有的真核生物通过小的胞饮泡连续地摄入小的质膜片段，这些小的质膜片段还会返回到质膜。**胞饮过程**中质膜被内在化的速率依细胞类型不同而不同，但是速率确实是惊人的快。例如，一个巨噬细胞每小时摄入相当于

体积25%的液体，这意味着每分钟摄入3%的质膜，或者说每半个小时摄入100%的质膜。纤维原细胞速度相对慢一些（每分钟摄入1%），而有些变形虫摄入的速度却快得多。因为在胞饮过程中细胞的表面积和体积没有发生变化，显然通过胞吞作用摄入的相同量的质膜又通过一个相反的过程补到膜上了，这个过程就是我们后面要讨论的胞吐作用。从这个意义上说，胞吞作用和胞吐作用是相互关联的过程，共同组成了胞吞胞吐循环。

胞吞作用一般开始于**网格蛋白包被小窝**。这些有小窝的质膜特殊区域通常占整个质膜的2%。网格蛋白有被小窝存在的时间是很短的：形成大约需要1min，然后嵌入细胞内并出芽形成囊泡（图13-41）。据估计，培养的纤维原细胞每分钟有大约2500个网格蛋白包被的小窝离开质膜。有被囊泡的寿命比有被小窝的还短：在形成几秒后它们就脱去网格蛋白包被并与早胞内体融合。胞外液体在网格蛋白有被小窝内陷入细胞的过程中被包在其内，因此任何溶解在胞外液体中的物质都被吞入胞内——这个过程叫做液相胞吞作用（fluid-phase endocytosis）。

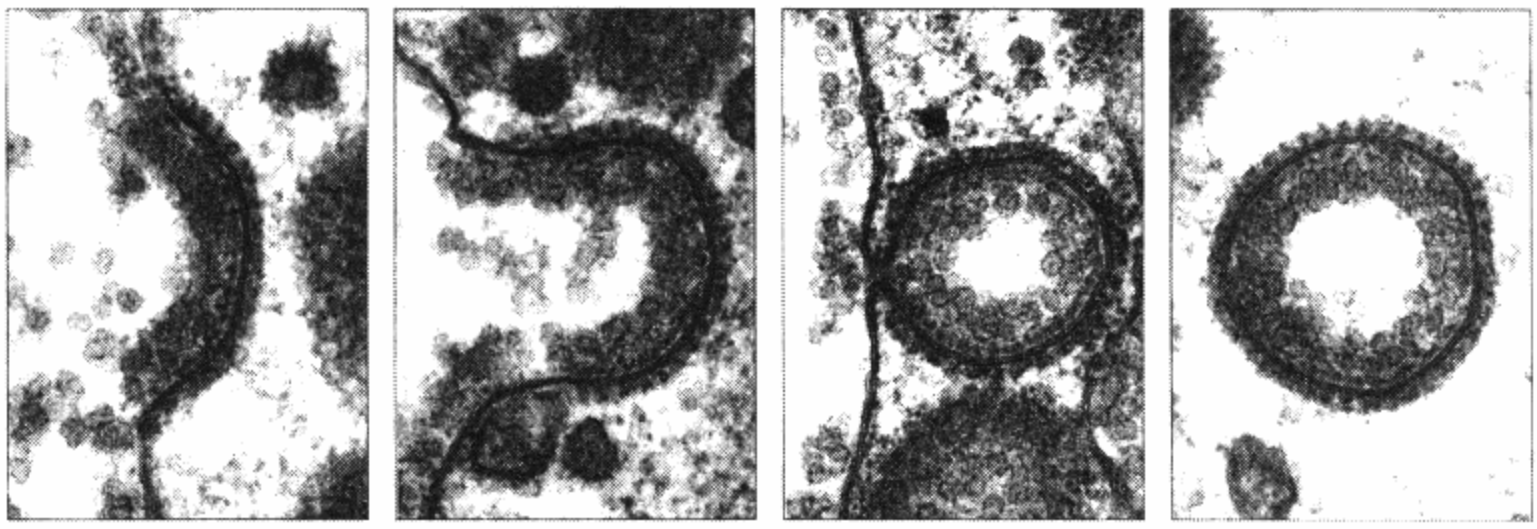


图13-41　网格蛋白有被囊泡从质膜上形成的过程

这些电镜图是由网格蛋白有被小窝形成网格蛋白有被囊泡的可能的顺序图。这里显示的网格蛋白有被小窝和网格蛋白有被囊泡要比正常大小的细胞上看到的大。它们是鸡的卵母细胞摄入脂蛋白颗粒形成卵黄的胞吞泡。脂蛋白颗粒结合在跨膜的受体上，从图上可看到在囊泡内表面的质膜上密密的、模糊的一层（摘自M. M. Perry and A. B. Gilbert, *J. Cell Sci.* 39: 257～272, 1979. ©The Company of Biologists）

并非所有的胞饮泡都是网格蛋白包被的

除了网格蛋白有被小窝和网格蛋白有被囊泡外，细胞还有其他的形成胞饮泡的机制，但是了解的不是很清楚。其中有一种途径起始于caveolae（来源于拉丁语小穴），是因为它们具有能穿过血管内表皮细胞转运分子的能力而首先被人们认识到的。caveolae存在于大多数细胞类型的质膜中，它们其中一些在电子显微镜下显示为深深内陷的长颈瓶样（图13-42）。它们可能是由从脂伐形成的。脂伐是极其富含胆固醇、鞘糖脂和GPI锚定的膜蛋白（图12-57）的质膜碎片。组成caveolae的主要的结构蛋白是caveolin，是一个属于异源蛋白家族的多次跨膜蛋白。

与网格蛋白包被的和COPⅠ或COPⅡ包被的囊泡不同，caveolae的膜不是利用胞质蛋白的组装而是通过脂组成的膜吞入和收集转运物的。caveolae从质膜上脱离然后将内含物运到胞内体样的间隔中或者通过叫做转内吞的过程运到质膜的另一极性面。有些病毒也是通过caveolae进入细胞的。病毒首先被运到胞内体样的间隔中，然后从那里再到内质网并在内质

网中经它们的基因组注入胞质中开始侵染循环。为什么由 caveolae 吞入的物质能运到细胞中如此多不同的部位至今还不清楚。

细胞通过受体介导的胞吞作用转运细胞外的大分子

受体介导的胞吞作用是大多数动物细胞通过网格蛋白有被小窝和囊泡从胞外液摄取特定大分子的有效途径。在这个过程（叫**受体介导胞吞作用**）中，胞外大分子结合到互补的跨膜受体上从而富集到有被小窝中，然后深陷的有被小窝脱离质膜形成有被囊泡（图 13-41）。受体介导的胞吞作用提供了一种选择性浓缩机制，可使特殊大分子的内化效率提高 100 多倍，即使胞外含量不多的大分子也可被细胞特异的摄入同时又避免了吸入细胞外大量的液体。一个重要的例子就是哺乳动物细胞通过受体介导的胞吞作用对胆固醇的摄取。

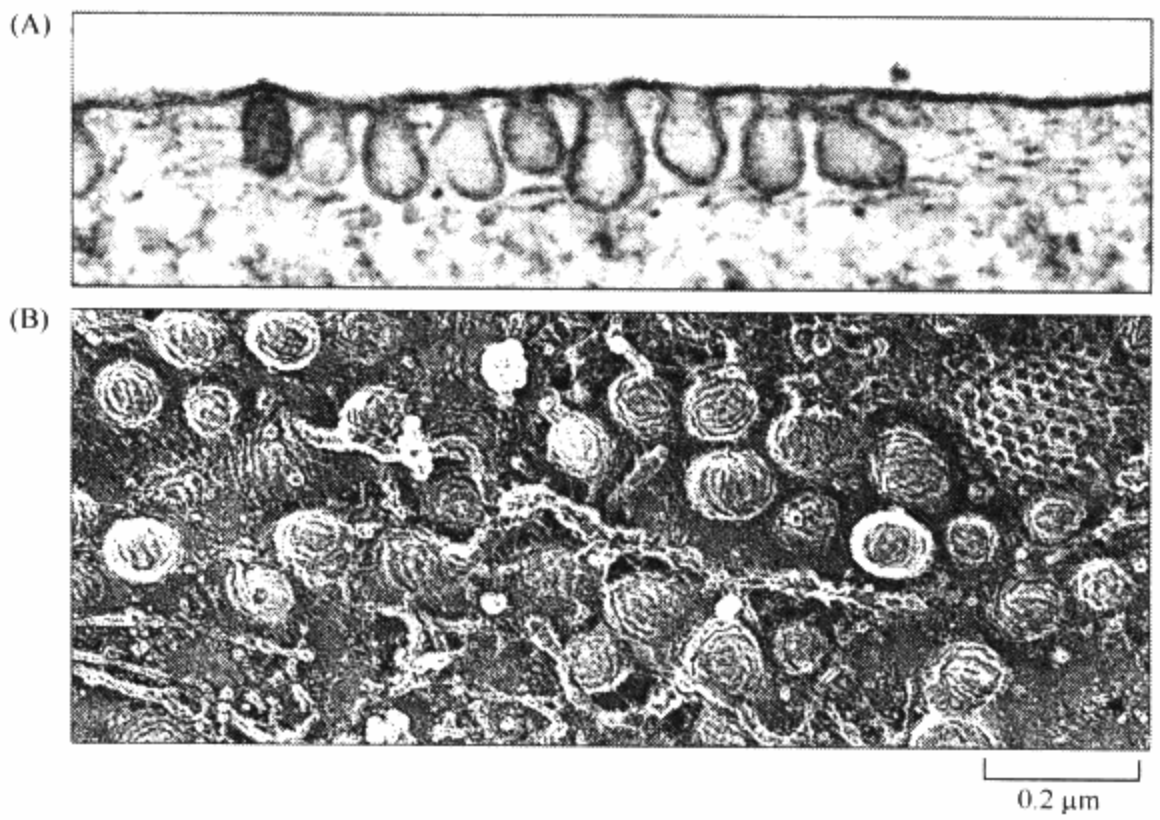


图 13-42　纤维原细胞质膜上的穴样内陷

（A）质膜上一个穴样内陷高度密集的区域的电镜图，需要指出的是看不到它们的包被。（B）这张快速冷冻深度蚀刻电镜图展示了穴样内陷胞质面“花椰菜”样的特征。这种特征是由 caveolin 聚集形成的，这张电镜图的右上角还有一个网格蛋白包被的小窝（经 R. G. W. Anderson 许可。摘自 K. G. Rothberg et al., *Cell* 68：673～682，1992. ©Elsevier）

许多动物细胞通过受体介导的胞吞作用摄取胆固醇已形成质膜。如果这一过程被阻碍，胆固醇就会在血管壁上积累形成动脉粥样硬化的斑动脉，脂肪和纤维状的物质的沉积能够阻碍血流引发中风和心脏病。实际上，受体介导的胞吞作用的机制正是通过对人类动脉粥样硬化疾病的遗传学研究阐明的。

大多数胆固醇在血液中以胆固醇酯的形式通过低密度脂蛋白（LDL）转运（图 13-43）。当细胞需要胆固醇来构建膜时，它就合成 LDL 受体蛋白并将它们插入质膜行使功能，LDL 受体通过扩散与正在形成的有被小窝的结合素蛋白结合［图 13-44(A)］。随着有被小窝从质膜上连续地脱离形成有被囊泡，LDL 被迅速内化。有被囊泡在脱去胞被后将内含物运送到位于细胞边缘的早胞内体中。胞内体中的低 pH 使 LDL 与受体脱离并经过晚胞内体被运送到溶酶体。在溶酶体中 LDL 颗粒中的胆固醇酯被水解释放出游离胆固醇，这样游离的胆固醇就可以被用来构建新膜了。如果细胞中游离胆固醇的量很大，细胞就会停止自身胆固醇的合成同时停止 LDL 受体蛋白的合成，因此既不合成也不吸收胆固醇。

对那些编码 LDL 受体蛋白的基因有缺陷的人来说，胆固醇摄入的调节途径被破坏了。这

会导致这些个体的血液胆固醇的浓度很高，以至于在未成年时就患上了动脉粥样硬化，许多人在年纪很小的时候就死于冠状动脉疾病造成的心脏病。在一些情况下，LDL 受体也一起缺失了。还有一些情况，LDL 受体的胞外结合位点或者胞内与结合素结合的位点有缺陷［图 13-44(B)］。后一种情况下 LDL 受体蛋白的数量是正常的但是它们不能在有被小窝区域富集。尽管 LDL 结合到突变细胞的表面，但是却不能被内化，这也直接表明网格蛋白有被小窝在受体介导的胞吞作用中的重要作用。

已知有 25 种以上的不同受体，具有不同的分选信号参与不同类型分子的受体介导的胞吞作用，并且都是利用相同的网格蛋白有被小窝途径。许多受体，如 LDL 受体，不管是否结合特异的配体就进入有被小窝，而有一些受体只有结合特异的配体才能进入，这表明这些受体需要配体诱导的构型改变来激活引导它们进入有被小窝的信号序列。因为大多数质膜蛋白不能在有被小窝上聚集，因此有被小窝就像一个选择特定的质膜蛋白的过滤器。

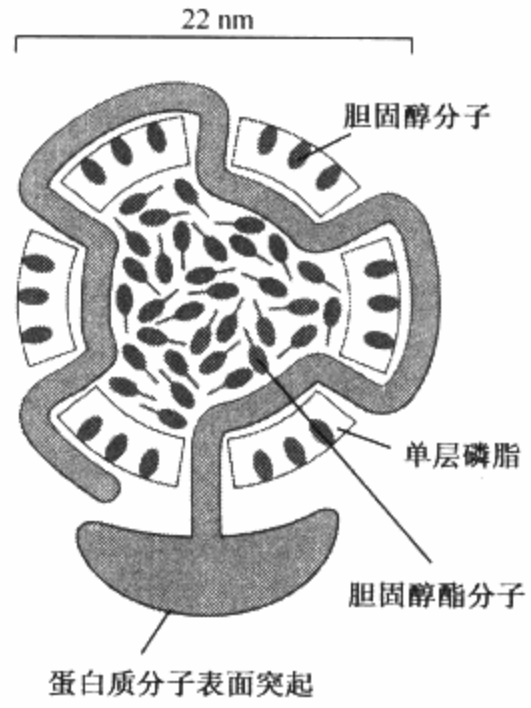


图 13-43　低密度脂蛋白（LDL）颗粒

每一个球形颗粒的相对分子质量是 3×10^6，有一个由大约 1500 个胆固醇酯组成的核心和一个大约 800 个磷脂和 500 个游离胆固醇分子组成的单分子层外壳构成。一个相对分子质量500 000的蛋白质将颗粒组织起来并介导 LDL 和细胞表面受体的特异结合

跨膜受体上的信号肽通过结合结合素蛋白而引导到

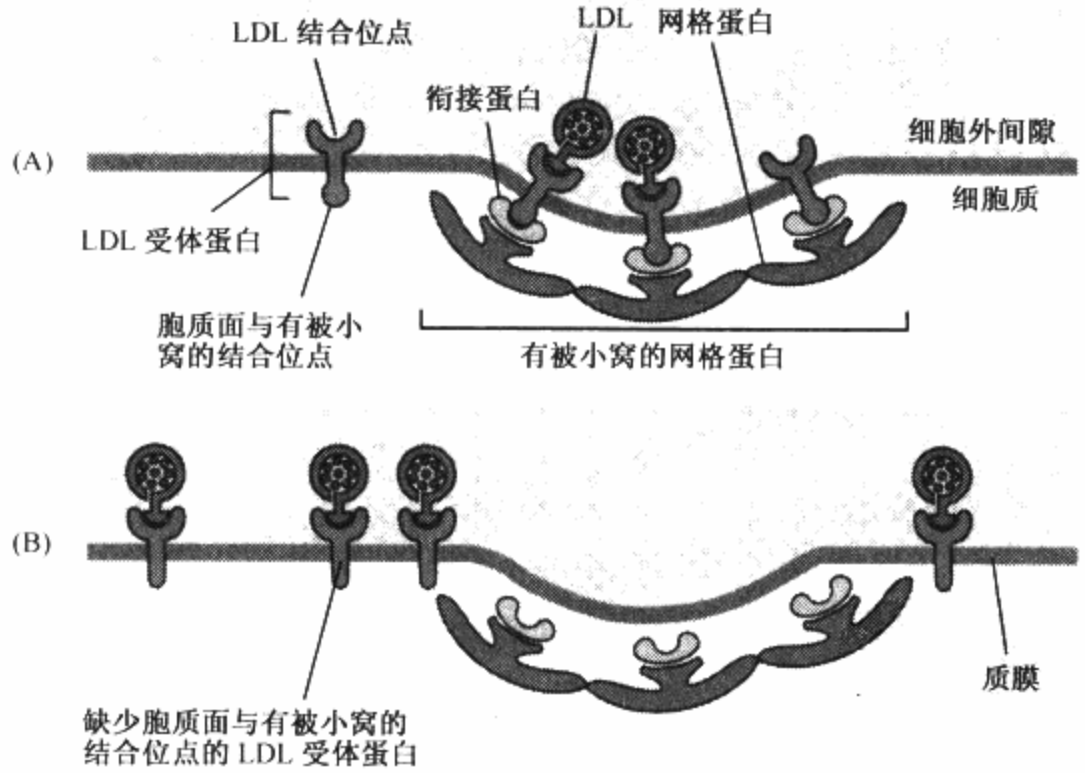


图 13-44　正常的和突变的受体

（A）LDL 受体结合到一个正常细胞的质膜表面的有被小窝上。人类的 LDL 受体是一个由 880 个氨基酸组成的单跨膜的糖蛋白，在膜的胞质面只有 50 个氨基酸。（B）一个突变的受体蛋白，LDL 结合位点正常但没有胞质面与有被小窝的结合素结合的位点。这样的细胞 LDL 能结合但是却不能被内化。这种 LDL 受体基因缺陷的个体比例为 1/500，他们容易患由脉粥样硬化引发的心脏病

受体进入网格蛋白有被小窝。尽管功能相同，信号肽的氨基酸序列是不同的。一个常见的胞吞信号肽是由 4 个氨基酸组成的：*Y*-*X*-*X*-Ψ，其中 *Y* 是酪氨酸，*X* 是任意的极性氨基酸，Ψ

是任意的疏水氨基酸。这一许多受体共有的短肽直接与网格蛋白有被小窝的结合素蛋白结合。相反，带有特异信号（Asn-Pro-Val-Tyr）的 LDL 受体与相同的结合素结合。

通过对同时加入不同标记的配体的培养细胞的电镜研究表明在一个有被小窝处可以有许多不同的受体。一个有被小窝可以使大约 1000 个不同的受体聚集在此。尽管利用这种胞吞途径的受体-配体复合物被运送到相同的胞内体，它们随后的命运却是不同的，这就是我们下面要讨论的。

不从胞内体返回的物质被送到溶酶体

细胞内的胞内体是非常复杂的。通过在胞外基质中加入可追踪的分子，如过氧化物酶，并对处于基质中不同时间的细胞进行取样观察，在电镜下我们可以看到胞内体。从这些被吸收的可追踪分子的研究我们可以看到胞内体是分布于细胞边缘和通常靠近高尔基体的细胞核附近区域之间的一系列异质性的、膜包被的管状细胞器。在这种标记实验中我们可以很容易地区分两种有序的胞内体。在大约 1min 的时候，分子位于质膜下的早期胞内体中，而 5～15min 后，这些分子到了靠近高尔基体和细胞核的晚期胞内体中。早期和晚期胞内体的蛋白质组成是不同的，如它们与不同的 Ras 蛋白相互联系。

前面曾经提到过，胞内体利用膜上的液泡 H^+ ATPase 将胞质内 H^+ 泵入以维持酸性的（pH 约 6）内环境。通常晚期胞内体的 pH 比早期胞内体还要低，这种酸性的环境对这些细胞器功能的发挥至关重要。

我们前面已经了解了被胞吞入内到达晚期胞内体的物质是怎样与新合成的酸性水解酶混合并在溶酶体中被消化的。然而许多分子的消化途径不尽相同。它们有的被运输囊泡从早期胞内体运回到质膜重新利用。只有那些不从胞内体返回的物质才被运到溶酶体中降解。

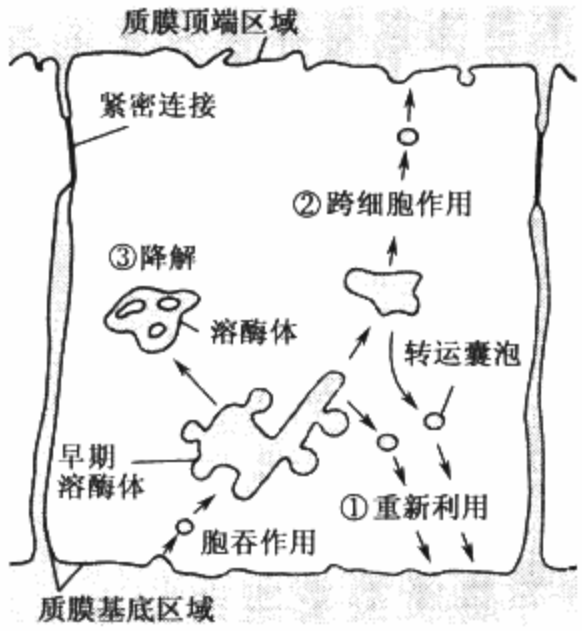


图 13-45　被胞吞入内的跨膜受体蛋白的可能命运

这里显示了 3 条表皮生长细胞中起源于胞内体的路径。返回受体回到①它们原来所在的质膜区域重新利用或者②通过跨细胞作用而被运到不同的质膜区；③那些不被运回去重新利用的受体从胞内体到达溶酶体而被消化。溶酶体膜上不断聚集外来囊泡可能是引导受体进入消化途径的信号之一。如果被胞吞的配体在胞内体的酸性环境中仍与其受体紧密结合的话，它将沿着与受体相同的途径被利用，否则就被运到溶酶体中消化

有些特异的分子被从早期胞内体运回到质膜

如同合成分泌途径中的顺面和反面高而基体网状结构一样，**早期胞内体**是胞吞途径中一个主要的筛选站。在早期胞内体的酸性的内环境中，许多内化的受体蛋白改变构型并释放出结合的配体，如 M6P 受体是在晚期胞内体的更低的 pH 环境中释放出其携带的酸性水解酶一样。这些在早期胞内体的酸性的内环境中被释放的配体通常与胞内体中许多其他的可溶性物质一起被运到溶酶体中消化。还有一些不与受体分离的配体，其命运当然与受体一样了。

受体蛋白的命运（还有仍然结合的配体）因受体类型的不同而不同。①大多数受体返回到其来源的质膜区域重新利用；②许多受体到达质膜的其他地方，介导一个被称为跨细胞作用的过程；③也有的被运到溶酶体降解（图 13-45）。

LDL 受体遵循第一条路经。它在早期溶酶体中与

其配体 LDL 解离然后返回质膜重新利用，而被卸下的 LDL 则被运到溶酶体中（图 13-46）。循环囊泡从早期溶酶体上延伸出来的细长的管状结构上出芽。很可能这些管状物的几何形状有助于这一筛选途径的进行，因为管状物表面积大而体积小，对这种几何形状来说膜蛋白相对集中。运送返回质膜的物质的囊泡从这些管状物上出芽而早期溶酶体上的管状结构上也能够脱离出来彼此融合形成循环溶酶体。在这个过程中管状结构和循环溶酶体都能连续的产生返回质膜的囊泡。

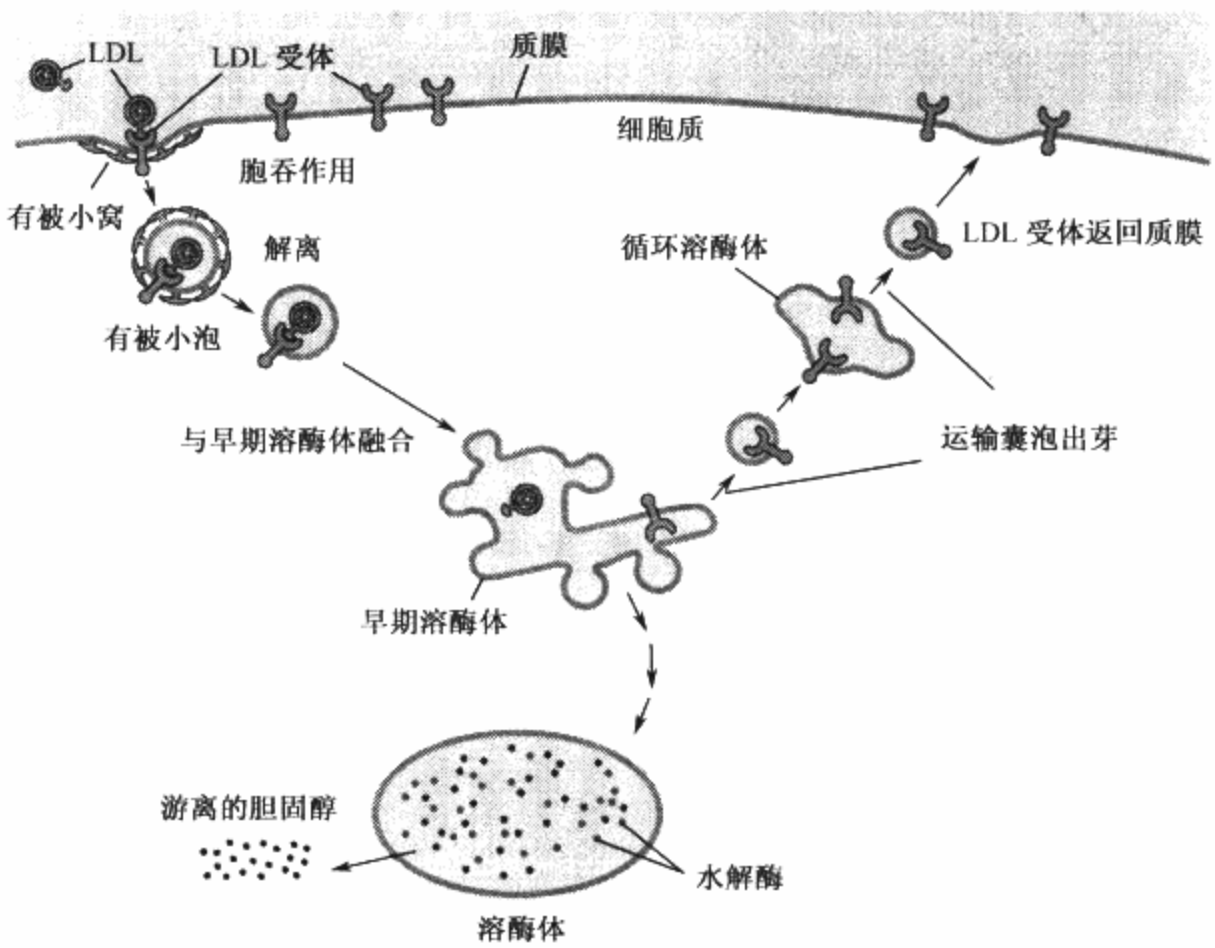


图 13-46　受体介导的 LDL 的胞吞

首先指出 LDL 在胞内体的酸性环境中与其受体解离。在经过许多步骤之后，LDL 在溶酶体中被消化释放出游离的胆固醇。相反，LDL 受体通过从早期胞内体的延伸出来的管状结构上出芽的网格蛋白运输囊泡被运会到质膜重新利用，如图所示。简化起见，这里只显示了 LDL 受体进入细胞并且返回质膜。LDL 受体通常转一圈后回到质膜，每 10min 就能循环一次。因此在它的 20h 的寿命中能循环几百次

转铁蛋白受体重利用路径与此类似，但是不同的是它的配体也被重新利用。转铁蛋白是血液中运输铁离子的一个可溶性蛋白。细胞表面的转铁蛋白受体通过受体介导的胞吞途径将转铁蛋白及其运输的铁离子运到早期溶酶体。早期溶酶体的低 pH 使得转铁蛋白释放铁离子，但是未结合铁离子的游离转铁蛋白（叫做脱辅基转铁蛋白）仍然与其受体结合，这一脱辅基转铁蛋白-受体复合物进入早期溶酶体的管状结构上，然后再被运到质膜（图 13-47）。当脱辅基转铁蛋白回到质膜外的中性 pH 的环境后从受体上解离，然后自由地结合铁离子开始新的循环。脱辅基转铁蛋白在细胞外液和除溶酶外的细胞内膜包被的区室之间穿梭，提供细胞生长所需的离子。

内吞的受体遵循的第二条途径为阿片样受体（图 13-47）和结合表皮生长因子（EGF）的受体所采用。EGF 是一个小的能刺激表皮和各种其他细胞分裂的胞外信号蛋白。EGF 受体只有在结合了 EGF 后才能聚集在网格蛋白包被的小窝里。大多数 EGF 受体不被重新利用而是在溶酶体中和 EGF 一同被降解。EGF 的结合首先是激活了胞外信号途径，然后使细胞表面的受体减少，这一过程称为受体下调调节以使细胞降低对 EGF 的敏感性（讨论见第 15 章）。

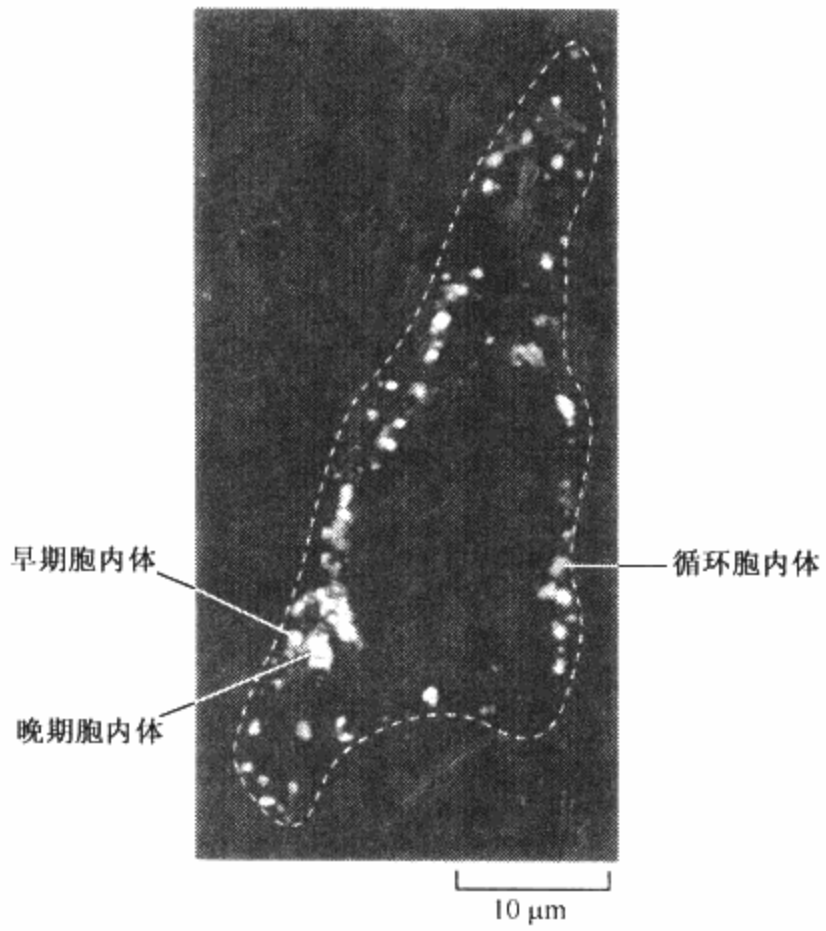


图 13-47　胞吞途径中膜蛋白的筛选

转铁蛋白受体介导营养吸收并在胞内体和质膜之间循环利用。相反，阿片样受体在结合受体后被胞吞入内然后被消化从而数量减少。这两种受体都是通过同样的网格蛋白包被的囊泡被胞吞，然后都被运到早期胞内体，只是以后的运输不同：转铁蛋白受体被运到质膜重新利用，而阿片样受体被运到晚期胞内体。这张电镜图显示了被不同的荧光染料标记（转铁蛋白受体被红色标记而阿片样受体被绿色标记）的两种受体。还能看到有些早期胞内体中同时存在两种受体就会显示黄色（是由于两种颜色的荧光燃亮重叠造成的视觉效果）。因此，循环胞内体和晚期胞内体就会选择性地富集转铁蛋白受体或阿片样受体而显示出不同的颜色（由 Mark von Zastrow 惠赠）

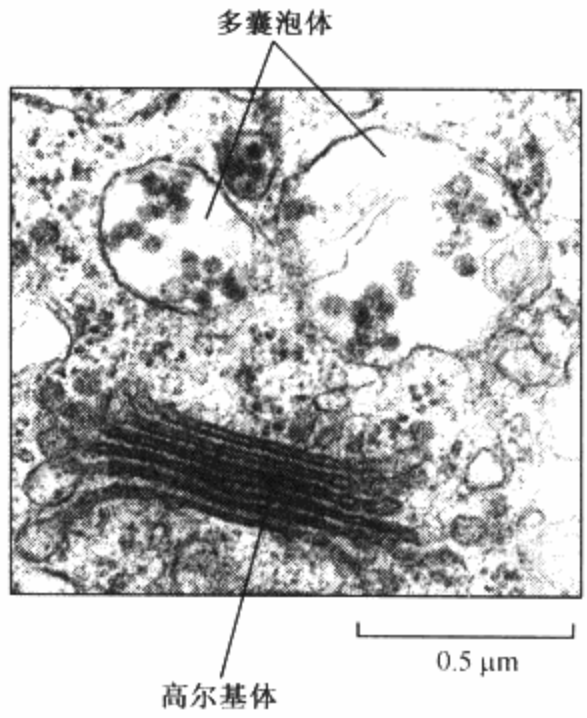


图 13-48　一个植物细胞中的多囊泡体的电镜图

有大量的内部的膜将被运到在植物中相当于溶酶体的液泡中消化

在前往晚期溶酶体的途中形成多囊泡体

被胞吞的分子是怎样从早期胞内体到了晚期胞内体又在溶酶体中得到消化的，这些仍然不是很清楚。目前有人认为早期溶酶体沿着胞内的微管慢慢移动，在这个过程中返回质膜的管状结构从其上脱离，也有一些内化的膜和细胞内部的囊泡与其融合在一起，因此就形成了**多囊泡体**（图 13-48）。现在还不清楚多囊泡体最终会和晚期胞内体融合还是彼此融合形成晚期胞内体。总之，最后晚期胞内体和来自于反面高尔基体网状结构的运输水解酶的囊泡融合形成 pH 更低的溶酶体（图 13-49）。

多囊泡体只运输那些将要被降解的膜蛋白而不运输将被重新利用的膜蛋白，特定的蛋白质（如前面提到的 EGF 受体）在蛋白质的筛选过程中选择性地进入内陷的膜中（图 13-50）。这样受体及其紧密结合的信号蛋白就能与消化酶接触并被消化掉。

将进入多囊泡体内部的囊泡中的膜蛋白首先要被小的泛素蛋白共价修饰。这种筛选膜蛋白进入内化的囊泡中小的泛素蛋白标记不同与将蛋白质带到大的蛋白体中降解的多泛素蛋白，它只是一个泛素蛋白分子，在受体尚处于质膜上时就被加到了受体上。这种泛素蛋白标记有助于受体蛋白进入内吞囊泡同时调节蛋白被筛选进入多囊泡体内部的囊泡。此外，多囊泡体的膜内陷还受磷酸化磷脂酰肌醇的脂类激酶的调节。这些脂类磷酸化的头部被认为是调节内

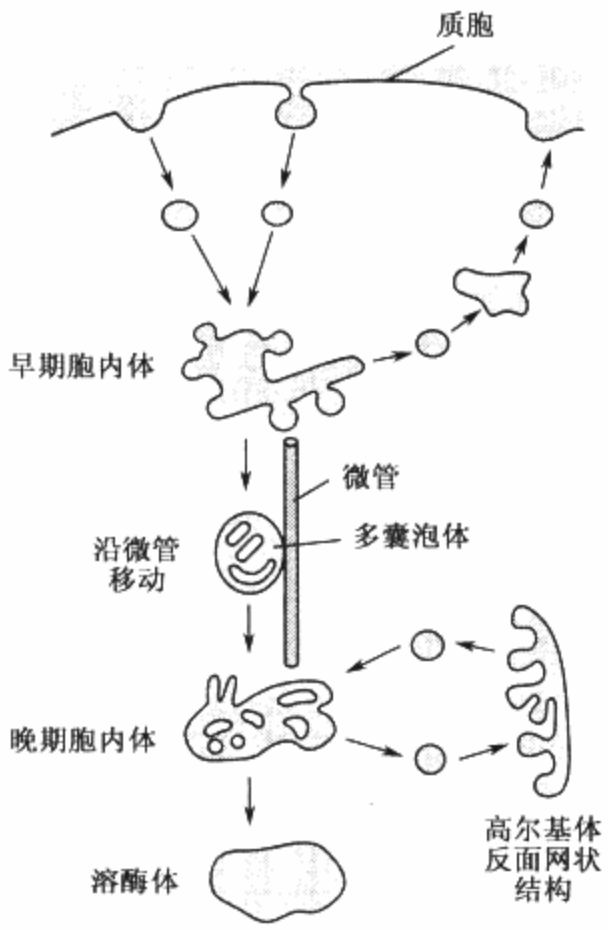


图 13-49　从质膜到溶酶体的胞吞途径

从早期胞内体到晚期胞内体的这一成熟过程通过形成多囊泡体而完成，多囊泡体是因为它含有大量的内陷的膜内部的囊泡而得名。这些多囊泡体沿着微管移动，在移动过程中被运到质膜的组分从其上脱离，多囊泡体慢慢变成了晚期溶酶体就不再返回质膜的囊泡形成了，但是会与来自于高尔基体反面网状结构的囊泡融合，囊泡内的水解酶使得晚期溶酶体转变成溶酶体

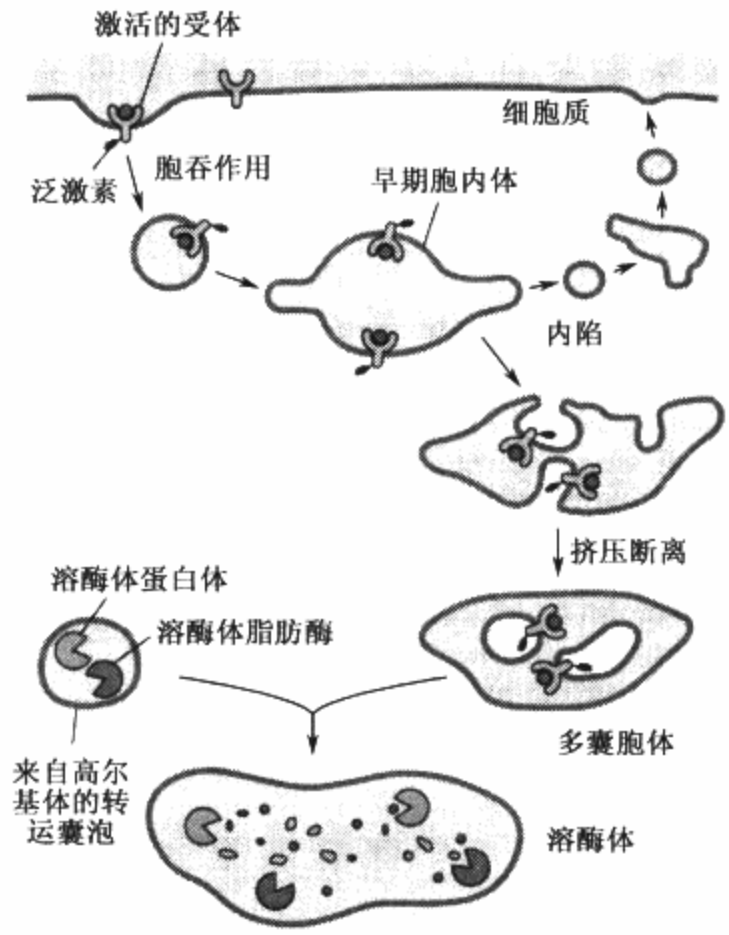


图 13-50　胞吞的蛋白质通过内陷进入多溶酶体的内部而与外膜分离开

实际上，所有内陷产生的内部的膜都是由有溶酶体中的蛋白酶和脂酶消化的。内陷对胞吞进入的膜的消化是非常重要的，因为多囊泡体的外膜与溶酶体的膜融合在一起，如果没有内陷的话，溶酶体酶便不能消化如 EGF 受体这样的跨膜蛋白的胞质区域了

陷的蛋白质的锚定位点。脂类分子的局部修饰是另一种是局部膜改变形状和密度的方法。

多囊泡体中除了有胞吞的膜蛋白以外还将一些早期胞内体的可溶性内含物运到溶酶体降解。

大分子能通过跨细胞作用穿过表皮细胞

存在与极性的表皮细胞表面的许多受体通过跨细胞作用途径将特异的大分子从细胞的一边运到另一边（图 13-51）。这些被胞吞入内的受体沿着起源于胞内体的途径被运到另外的质膜区域（图 13-46）。例如，一个新生儿从母乳中获得抗体，抗体穿过肠表皮细胞被运输进来。在肠腔的酸性环境中，母乳中的抗体结合到肠表皮细胞的吸收面的特异的受体上，然后这一复合物通过网格蛋白包被的小窝和囊泡被运到早期胞内体，然后通过从其上出芽的囊泡被完整地运到质膜区域并与基底膜融合。只要一接触基底膜胞外基质的中性的 pH 环境，抗体就与受体解离并最终会进入新生儿的血液中。

从早期胞内体到质膜的运输途径的方向不是固定的，受体首先从早期胞内体到达前面提到过的循环胞内体（图 13-51）。从早期胞内体起始的不同的受体运输途径表明许多受体蛋白除了有配体结合位点和包被蛋白结合位点外还有指导它们进入合适的运输囊泡的筛选信号，以使得它们到达细胞合适的靶膜区域上。

循环胞内体的一个特性在于膜蛋白的运出是受调节的，因此细胞可以根据需要利用跨细胞作用途径调节蛋白质的流量。尽管这种调节机制还不是很清楚，但是无疑循环胞内体在调

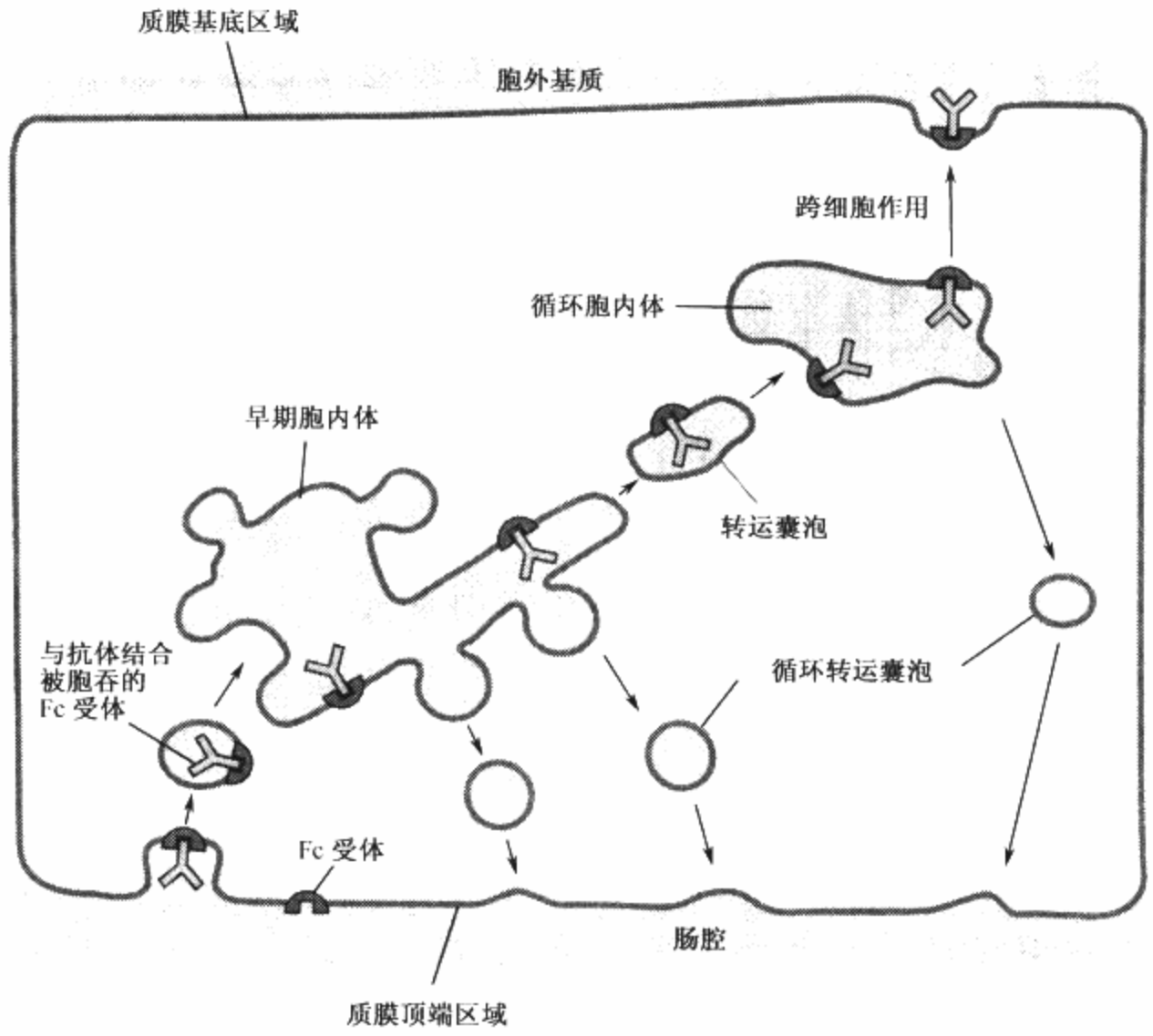


图 13-51　跨细胞作用

循环胞内体是跨细胞作用过程中的站点。如抗体受体的例子，它在肠表皮细胞表面与抗体结合被胞吞入内最终将抗体运到与胞外基质接触的基底膜，胞外基质有血管贯穿其中。这种抗体被称为 Fc 受体因为它结合抗体的 Fc 区（讨论见第 24 章）

节特异的质膜蛋白的浓度上起了重要的作用。例如，脂肪细胞和肌肉细胞中有大量的从质膜外吸收葡萄糖的转运蛋白，这些蛋白质储存在特定的循环胞内体内，当细胞受到胰岛素的刺激时这些蛋白质才被运输囊泡从循环胞内体运到质膜上，大量增加地转运蛋白加速了细胞对葡萄糖的吸收（图 13-52）。

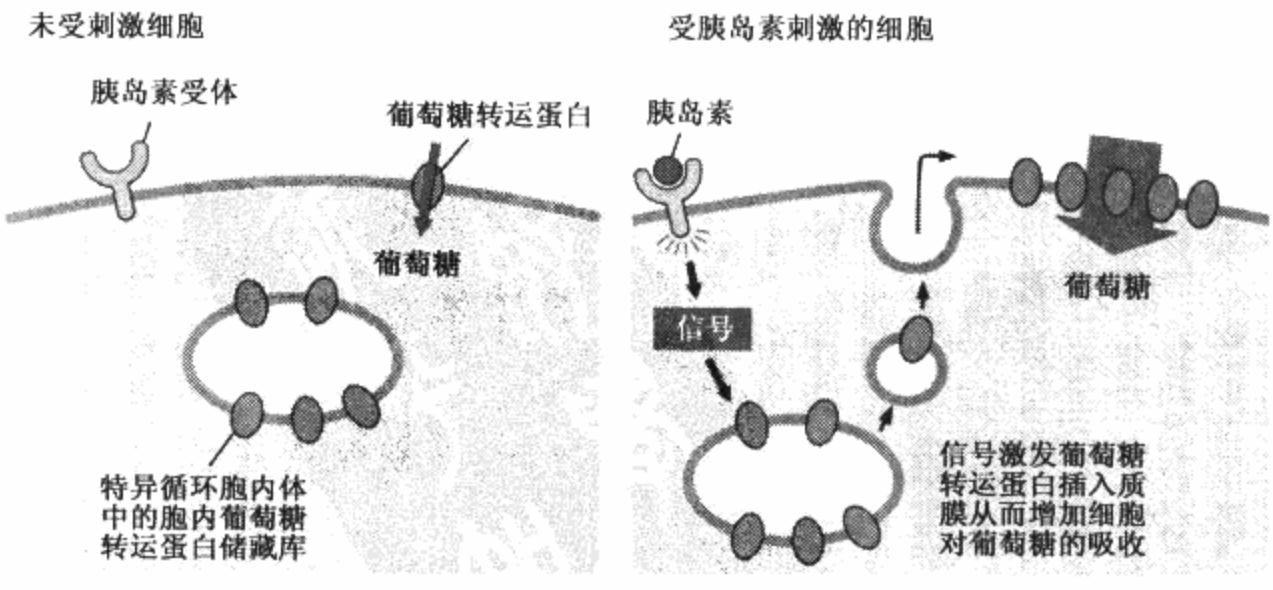


图 13-52　质膜蛋白储存在循环胞内体中

循环胞内体可以看作是一个特异的质膜蛋白的胞内储藏库，需要时就被释放出来。如该图所示的例子，胰岛素和其受体结合引发了葡萄糖转运蛋白快速插入脂肪细胞和肌肉细胞质膜的信号，大大增加了对葡萄糖的吸收

表皮细胞有两种不同的早期胞内体但是只有一种晚期胞内体

极性的表皮细胞的基底膜和顶部膜区都有胞吞作用。从不同的膜区胞吞的物质首先进入各区特异的早期胞内体中，这样有利于那些将返回原质膜区的胞吞入内的受体的运回，除非这些受体上有可以使它们被运到不同的质膜区的信号。这些运入的物质然后被运到靠近细胞中央的相同的晚期胞内体中最终被溶酶体消化（图 13-53）。

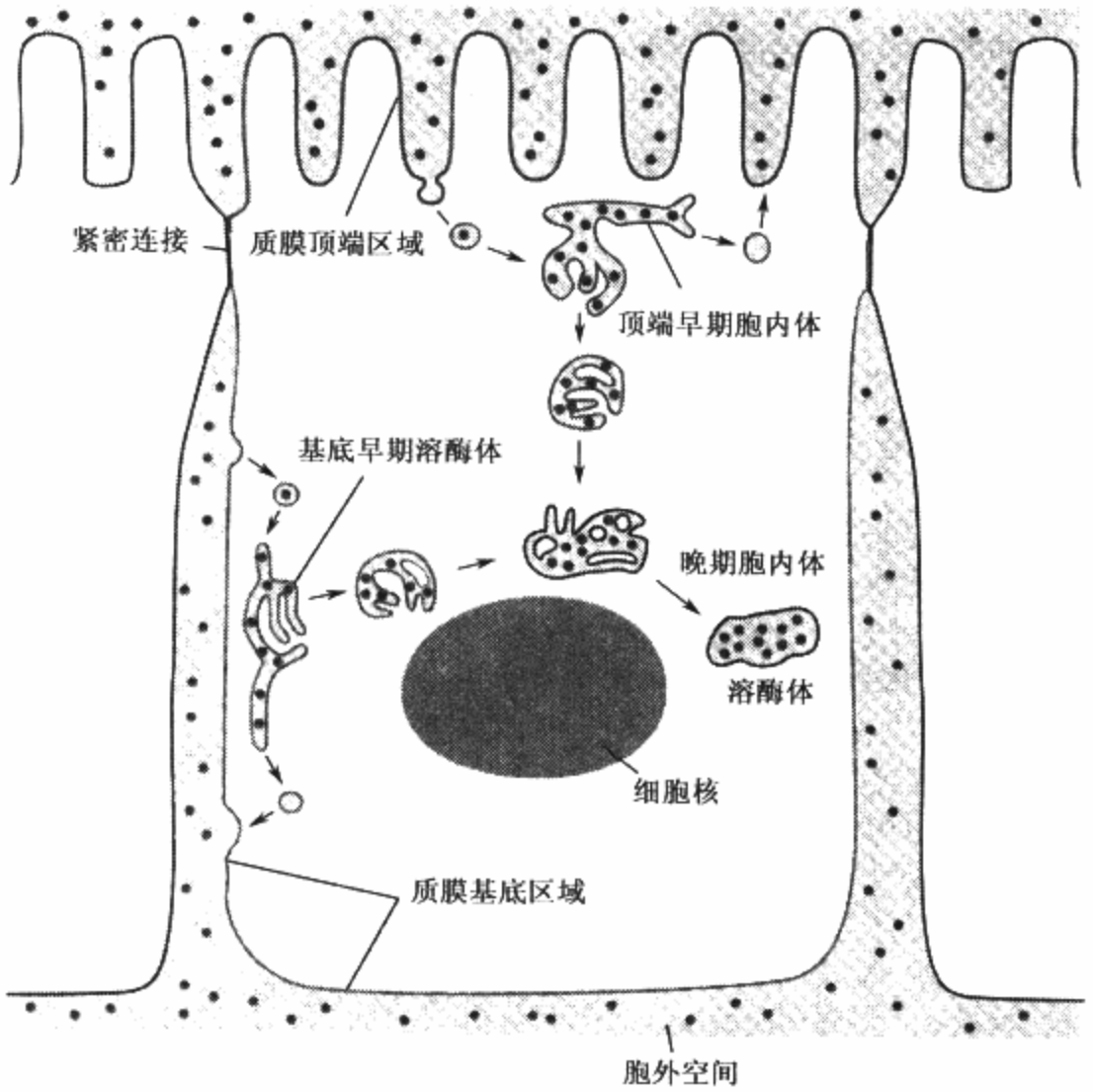


图 13-53　表皮细胞中的两种不同的早期胞内体

表皮细胞的基底膜和顶部膜区与各自的早期溶酶体之间进行交流，那些没有进入循环利用和跨细胞作用途径信号的吞入物质都将被运到相同的晚期胞内体中然后在溶酶体中被消化

细胞是由一些相互连接的还是独立的胞内体组成取决于细胞的类型和生理状态。和许多有膜的细胞器一样，相同的胞内体可以互相融合形成大的、连续的胞内体。

小结

细胞局部质膜区域的内陷形成的胞吞泡将液体、分子和颗粒性物质吞入细胞。许多被吞入的分子在溶酶体中被消化。胞吞泡的形成有组成型的信号触发的两种方式，发生的频率很高使得在 1h 内大部分的质膜被内化。因此为了使这一过程顺利进行，被吞入的质膜组分（蛋白质和脂类）要连续的通过胞吐途径返回到质膜，这种大规模的胞吞-胞吐循环是由网格蛋白包被的小窝和囊泡介导的。

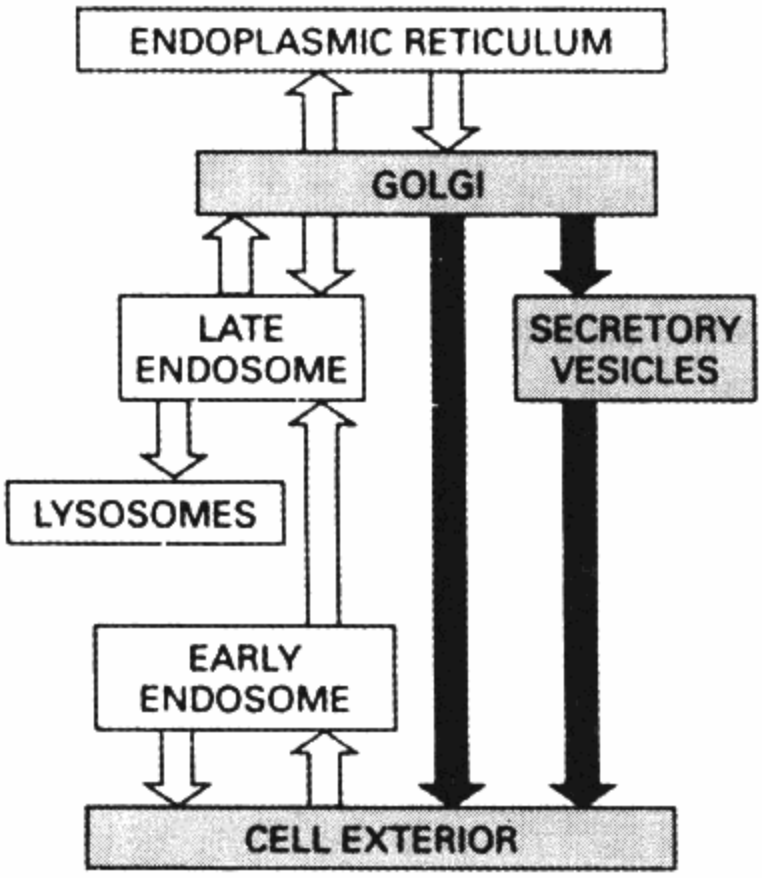
许多结合特异的细胞外大分子的受体在网格蛋白包被的小窝中聚集从而使得受体及其配体被有效的内化进入网格蛋白包被的囊泡，这一过程被称为受体介导的胞吞途径。网格蛋白

包被的囊泡迅速地与其包被蛋白分开并与早期溶酶体融合。

大多数配体在胞内体的酸性的环境中与其受体解离最终被溶酶体中消化掉，而受体通过返回质膜的囊泡运输得到循环利用。但也存在其他的运输途径，例如，在一些情况下受体和配体都在溶酶体中被消化，使得受体的数量减少，而还有的情况下，受体和配体都被运到另外的质膜区域，配体在一个不同与其起源的质膜区被释放，这一过程叫做跨细胞作用。跨细胞作用途径涉及循环胞内体，质膜蛋白可以储存在那里当需要时被释放出来。

从高尔基体反面网状结构到胞外的运输：胞吐途径

前面已经谈过了细胞内部的消化系统和各种内部的膜之间的交汇于溶酶体的运输，下面我们再回到高尔基体看一看到达胞外的分泌途径。将前往质膜的囊泡通常从高尔基体反面网状结构以稳定的数量生成，这些囊泡中的膜蛋白及其配体为质膜提供了新的组分而可溶性的组分被分泌到胞外空间。囊泡与质膜的融合称为**胞吐**，细胞产生的大多数的蛋白聚糖和糖蛋白通过这条途径被分泌到胞外，详见第 19 章。



所有的细胞都有这种**组成型的分泌途径**，而在特异的分泌细胞中还有另外的称为**调节型分泌途径的路径**，可溶性的分子先是被储存在分泌泡中然后才被释放。这种调节型分泌途径多见于分泌激素、神经递质或者消化酶等的分泌细胞中（图 13-54）。这一章将讨论高尔基体在这两种分泌途径中的作用并对两种途径进行比较。

许多蛋白质和脂类被自动地从高尔基体运到细胞表面

在一个具有受调节的分泌的细胞中至少有 3 种蛋白质在离开高尔基体反面网状结构时被分开，经被运到溶酶体的蛋白质（经过胞内体），将到达分泌泡的蛋白质和将被直接运到细胞表面的蛋白质。前面我们已经提到将运到溶酶体中的蛋白质被包装进特异的囊泡（如溶酶体水解酶的 6-磷酸-甘露糖信号），分泌蛋白也可能有类似的信号指导其进入分泌泡。其他的大多数蛋白质通过非选择性的组成型分泌途径直接运到细胞表面。因为进入这条分泌途径并不需要特异的信号，因此这条途径有被称为**默认途径**（图 13-55）。因此在一个非极性的白细胞或纤维原细胞中，除了特异地运回内质网的蛋白质、高尔基体滞留蛋白、选择性地进入调节分泌途径和溶酶体的蛋白质外，所有的蛋白质都被组成型途径运到了细胞表面。在极性细胞中，不同的蛋白质要被运到细胞表面的不同区域，其选择过程是非常复杂的。

分泌泡从反面高尔基体网状结构出芽

分泌细胞为满足生长的需要快速分泌一些产物并将它们浓缩并储存在分泌泡中（也叫做

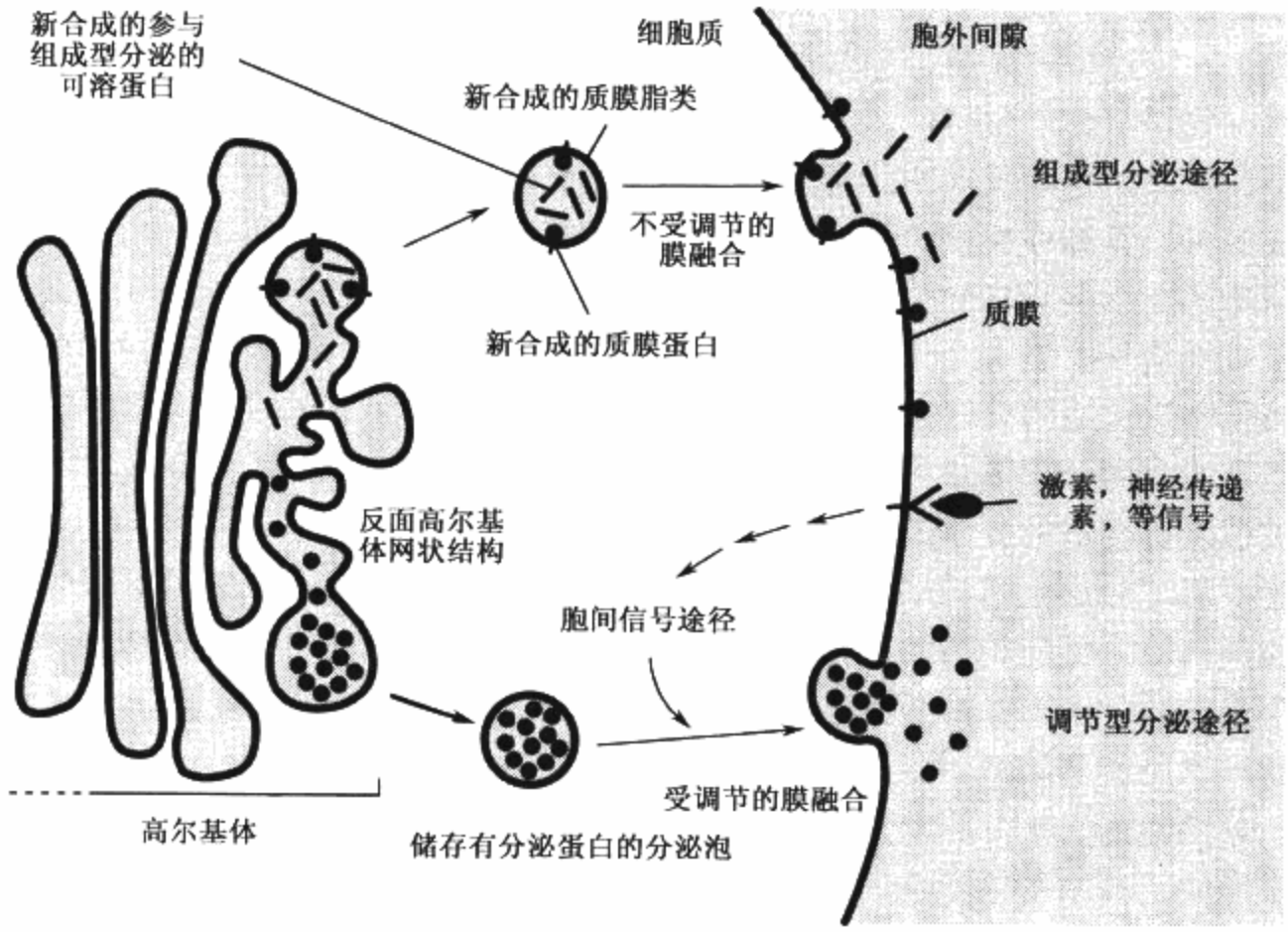


图 13-54　组成型和调节型分泌途径

这两条途径从反面高尔基体网状结构初开始有差异。组成型分泌途径存在于所有的细胞中。许多可溶性的蛋白质是通过这条途径分泌到胞外的，组成型分泌还给质膜提供新合成的脂类和蛋白质。特化的分泌细胞还有一种调节型分泌途径，这些分泌细胞产生的分泌物储存在分泌泡中当细胞受到胞外信号的刺激时才经内含物释放出来。小分子物质如组氨酸的调节型分泌其途径都相似，它们先被运到特定的分泌泡并与特异的大分子形成复合物（对组氨酸来说是蛋白聚糖），因此能以很高的浓度存在于分泌泡中而不至于造成过度的高渗压力

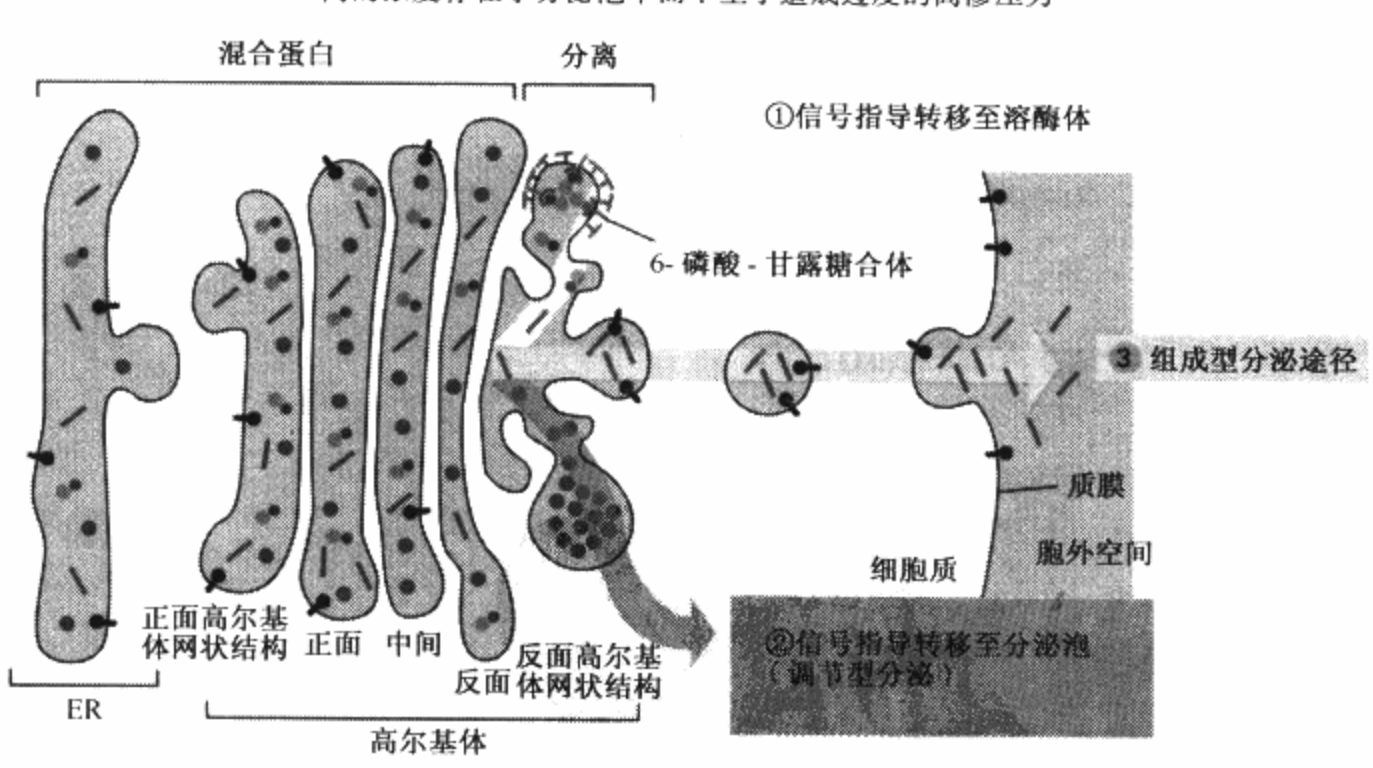


图 13-55　蛋白质从反面高尔基体分选的 3 条已知途径

①有 M6P 标记的蛋白质通过网格蛋白包被的囊泡经由晚期胞内体运到溶酶体（图 13-37）。②在一些特化的分泌细胞中，有些蛋白质有信号指导它们进入受调节型分泌调节的分泌泡中储存起来。③在非极化的细胞中，没有特异信号的蛋白质通过组成型分泌途径运到细胞表面。然而在极化的细胞中，分泌蛋白和质膜蛋白被选择性地运到顶部或基底膜区域。因此这两条途径中至少有一条是受特异信号调节的，后面将要讨论

分泌颗粒或深核囊泡，因为它们在电镜下显示出其核心颜色很深）。分泌泡形成于反面高尔基体网状结构上，通过应答于胞外信号的胞吐途径将内含物释放到胞外。这些分泌物可能是小分子的物质（如组氨酸）也可能是蛋白质（如激素或水解酶）。

分泌蛋白在高尔基体反面网状结构通过一个选择性聚集的机制被包装进合适的分泌泡中。通过电镜我们可以看到在反面高尔基体网状结构的腔内看到大量这种高电子密度的聚集体。目前还不清楚是什么信号指导分泌蛋白聚集在一起，一般认为是这种蛋白质共有的一些信号片段组成了聚集信号。当一个编码分泌蛋白的基因被转到没有这种分泌蛋白的分泌细胞中时，外源蛋白被包装进合适的分泌泡，说明尽管不同分泌细胞分泌不同的分泌蛋白包装进不同的分泌泡，但是所有的分泌细胞都是具有通用的筛选信号，即使不在某种分泌泡中表达的蛋白质仍能够被包装进合适的分泌泡。

目前还不清楚分泌蛋白的聚集体是怎样被分隔进不同的分泌泡中的，不同的分泌泡膜上都有独特的蛋白质，可能是高尔基体反面网状结构处聚集蛋白的受体。聚集蛋白体是很大的，不可能每个蛋白质分子都像溶酶体运输时那样每个蛋白质都结合到其受体上。聚集体被吸收进分泌泡的过程可能更类似于胞吞细胞吸收细胞表面的颗粒，质膜将整个大的颗粒包起来。

起先，分泌泡的大部分膜只是松散地将聚集的分泌蛋白包起来，这些未成熟的分泌泡形态上类似于形成于高尔基体堆叠的膨大的反面高尔基体膜囊。随着分泌泡的成熟，内含物逐渐浓缩（图 13-56），可能是一部分膜逆行回到晚期溶酶体，重新利用和分泌泡膜上 ATP 驱动的 H^+ 泵的集中造成的分泌泡腔的逐步酸化的结果。然而在分泌泡成熟过程中的蛋白质的浓缩程度与蛋白质离开内质网时的 200～400 倍的浓缩相比要小得多。由于 COP Ⅰ 包被的囊泡调节的逆行运输途径的广泛存在，分泌蛋白和膜蛋白在离开内质网时途经高尔基体的过程中被逐步浓缩。

膜的循环利用对高尔基体组分回到高尔基体以及分泌泡内含物的浓缩是非常重要的。介导逆行运输的网格蛋白包被的囊泡从未成熟的分泌泡上形成，有时甚至可在未脱离高尔基体堆叠的分泌泡芽上看到［图 13-56(B)］。

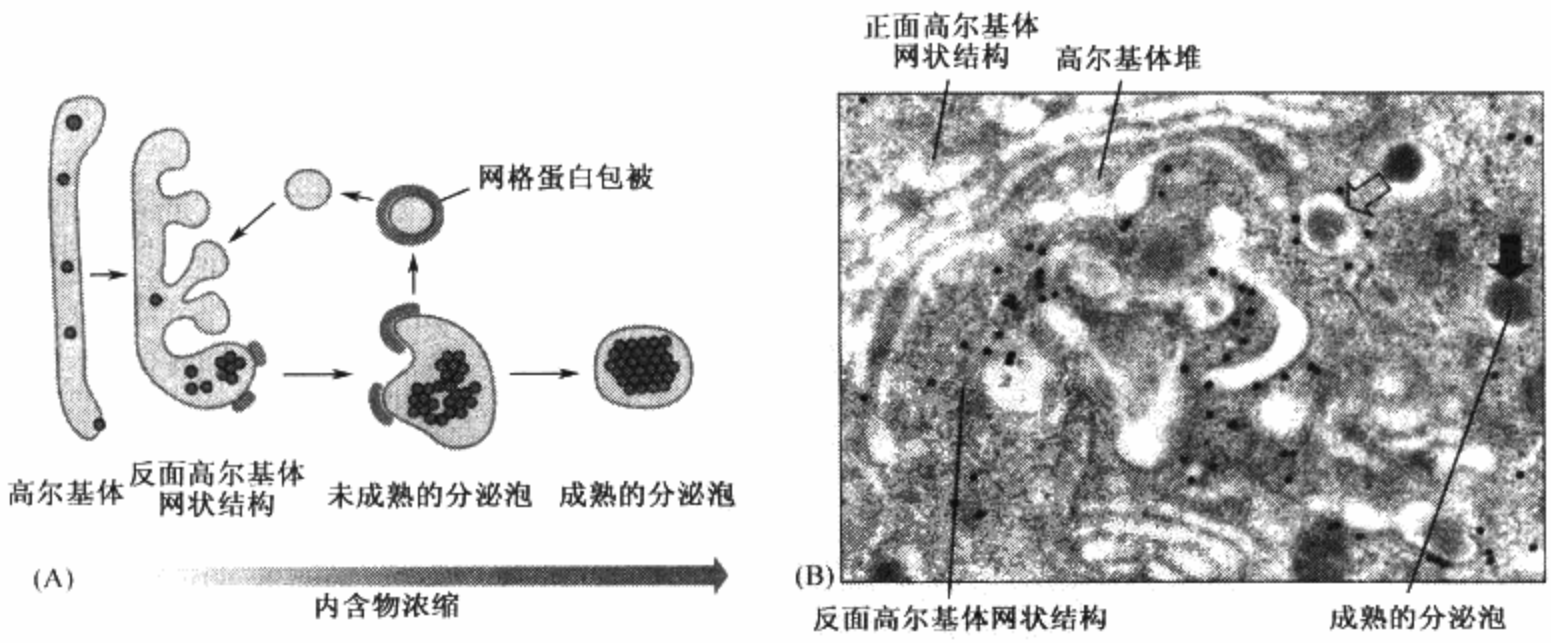


图 13-56　分泌泡的形成

（A）分泌蛋白被分隔开来并通过两种机制高度浓缩于分泌泡中。首先在高尔基体反面网状结构的离子环境中它们聚集在一起，随着分泌泡的成熟和其腔内环境的酸化越来越聚集。另外，随着分泌泡的成熟许多膜蛋白和腔内含物被网格蛋白包被的囊泡运回到高尔基体反面网状结构。（B）这是一张分泌胰岛素的 β 细胞的电镜图，分泌泡从高尔基体反面网状结构上形成。共价结合着金颗粒的抗体用来定位网格蛋白（黑点所示）。含有胰岛素前体（胰岛素原）的未成熟的分泌泡（空心箭头）尚含有一些网格蛋白；而成熟的分泌泡上（实心箭头）就看不到了，其核心密度很高（由 Lelio Orci 惠赠）

因为成熟的分泌泡中的内含物是高度浓缩的，因此当胞吐被引发时，分泌泡能迅速地吐出大量的内含物（图 13-57）。

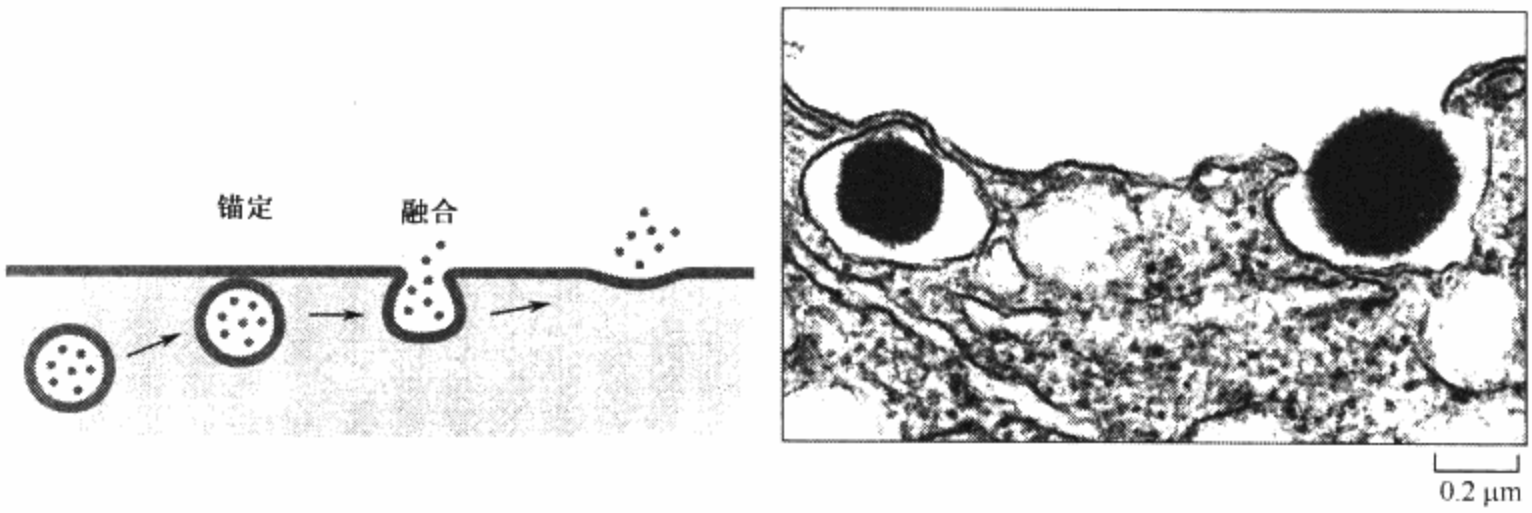


图 13-57　分泌泡的胞吐

一个胰腺 β 细胞分泌泡释放胰岛素的电镜图（经 Lelio Orci 许可，摘自 L. Orci, J. -D. Vassali, A. Perrelet, *Sci. Am.* 256：85～94，1988）

分泌泡中的蛋白质在分泌泡形成的过程中通常要经历蛋白质水解过程

分泌蛋白在分泌泡成熟的过程中不只被浓缩，通常以无活性的前体形式合成的许多激素多肽，神经肽以及许多分泌型的水解酶还要经过蛋白水解酶的水解才能成为有活性的蛋白质。这种蛋白质切割在反面高尔基体网状结构中就已经开始，在分泌泡成熟过程中一直继续，有时在蛋白质被分泌到胞外后还受到切割处理。例如，有的 N 端带有前肽的分泌蛋白质，只有前肽被切割掉才能产生活性的蛋白质。这些要经过处理的蛋白质通常是以前蛋白质源的形式被合成的，前肽是早在粗面内质网中就被切除的内质网信号肽（图 12-40）。还有一些蛋白质是多拷贝的多肽形式存在的。更复杂的情况下，有些蛋白质是有许多多肽组成的，每个多肽都是一种终产物蛋白质的前体。这个蛋白质前体在不同的细胞中可以经历不同的切割处理产生不同的肽（图 13-58）。

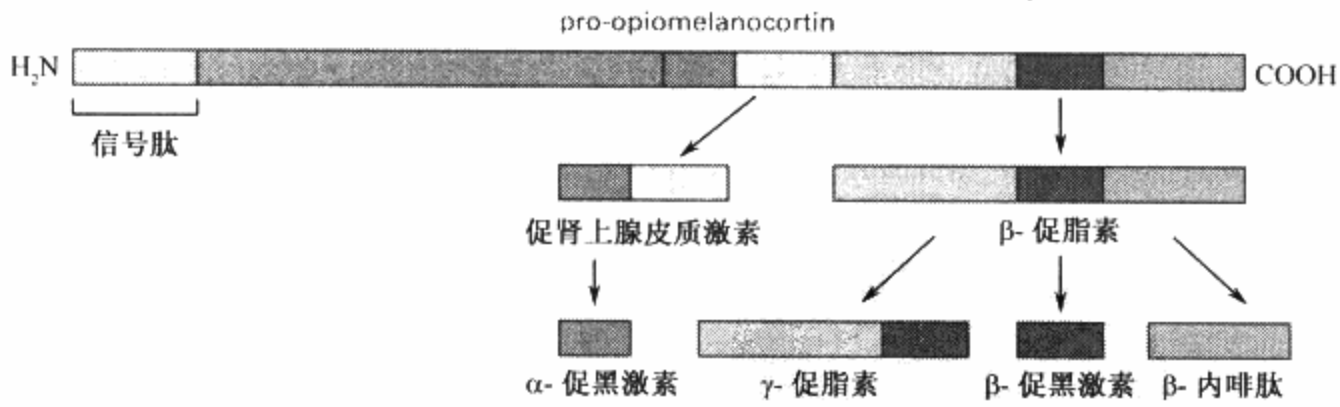


图 13-58　前激素 pro-opiomelanocortin 的可变加工途径

蛋白酶的起始切割在靠近一对带正电荷的氨基酸处（Lys-Arg、Lys-Lys、Arg-Lys 或者 Arg-Arg），然后经过修剪处理产生终产物多肽。因为不同细胞中不同加工酶的浓度是不同的，因此相同的前体会产生不同的多肽激素。例如，在垂体前叶 pro-opiomelanocortin 只产生促肾上腺皮质激素（ACTH）和 β 促脂素，而在垂体中叶主要产生 α 促黑激素、γ 促脂素、β 促黑激素和 β 内啡肽

为什么在分泌途径中蛋白质水解过程如此普遍呢？这是因为有许多多肽如脑啡肽（只有 5 个氨基酸的吗啡样活性肽）实在是太小了，不能再转移到内质网的过程中同时翻译，也不可能含有包装进分泌泡的必要的信号。此外，还有一些分泌型的水解酶，或者是那些本身的

活性在细胞内会对细胞造成破坏的蛋白质，在它们被分泌到胞外后再被活化就会使细胞免遭这些蛋白质在细胞内成熟造成的破坏。

分泌泡停在质膜附近等待分泌信号以释放内含物

分泌泡包装了分泌蛋白后就到达分泌的地点，在一些细胞中通常是远离高尔基体的地方。分泌蛋白。例如，在轴突的末端神经末梢释放的神经递质肽（神经肽）是在核糖体、内质网和高尔基体所在的胞体中被包装的，然后它们必须沿着轴突运行到甚至可以达 1m 远之外的神经末梢。在第 16 章曾讨论过，马达蛋白驱动分泌泡沿着轴突的微管运动，微管的方向一致性的定位指导分泌泡沿着正确的方向运行。微管还指导分泌泡到达细胞表面以完成组成型分泌。

含有分泌物的组成型分泌泡到达质膜并与之融合释放分泌物，而调节型分泌泡要在质膜处等待细胞接收信号以起始分泌。分泌信号通常是化学信号，例如，激素结合到细胞表面的受体上，受体被激活产生胞内信号，通常都伴随胞质 Ca^{2+} 浓度的短暂上升。在神经细胞中，胞吐的起始信号通常是一个由化学递质结合到此细胞表面的其他部位引发的电刺激（一个动作电位）。当动作电位到达神经末梢时引发一个通过电压门控离子通道的 Ca^{2+} 流，Ca^{2+} 结合到特异的感受器上从而引发分泌细胞（叫做突触泡）与质膜融合将内含物释出。

神经递质释放的速度表明调节融合的蛋白质并不经历复杂的多步的重新排布。分泌泡停在突触前质膜区以后要经历一个引发步骤，为迅速融合作准备。SNARE 可能只有部分配对，但是它们的螺旋不能完全环绕成融合所需的四螺旋束的构型（图 13-12）。其他一些蛋白质阻止 SNARE 的配对直到 Ca^{2+} 流解除这种抑制才能实现完全的融合。在一个典型的突触中，只有少数的停泊分泌泡被引发，为胞吐做准备。这种一次只用几个分泌泡的突触能够连续不断地释放分泌泡，新的分泌泡不断被引发代替以融合并释放了内含物的分泌泡。

调节型分泌可以是一个质膜区及其下的胞质区的局部反应

组胺是由**肥大细胞**释放的一种小分子，它是由特异受体结合到肥大细胞表面受体引发的调节型分泌途径释放的。组胺参与与过敏反应相伴的一些不良症状，如瘙痒和打喷嚏。当把肥大细胞放在一些可溶性的刺激物存在的液体中共温育时，细胞表面有大量的胞吐泡产生（图 13-59）。但是当人为的将这些刺激物配体连到一个固体珠表面时，这些刺激物就只能与肥大细胞表面的局部区域接触，此时胞吐就被限定在了细胞与固体珠接触的区域（图 13-60）。

这一实验表明质膜的不同区域是独立的胞吐调节区。因此肥大细胞不同于神经细胞，当被引发胞吐时不是以一个整体为单位起反应；受体的激活，引发的胞内信号以及接下来的胞吐都是定位在被激发的特定的细胞区域。例如，这种局部的胞吐使得杀伤性淋巴细胞精确地运送一个诱导被感染的靶细胞死亡的蛋白质到特定的区域而不影响周围的正常的细胞（图 16-97）。

分泌泡的膜组分被迅速地从质膜上移去

当一个分泌泡与质膜融合后，其内含物通过胞吐途径被释放到胞外，分泌泡膜成为质膜的一部分。尽管只大大地增加了质膜的表面积，然而这是短暂的，因为分泌泡膜组分将同样快的通过胞吞吐途径被从质膜上移去，这使我们想到了以前讨论过的胞吞-胞吐循环。分泌泡的质膜蛋白在被从质膜上移去后将被运到溶酶体中消化。被临时地加到质膜上的分泌泡膜的量是相当大的：在一个分泌水解酶到肠腔中的胰腺胰泡细胞中，当细胞被刺激分泌时，大约

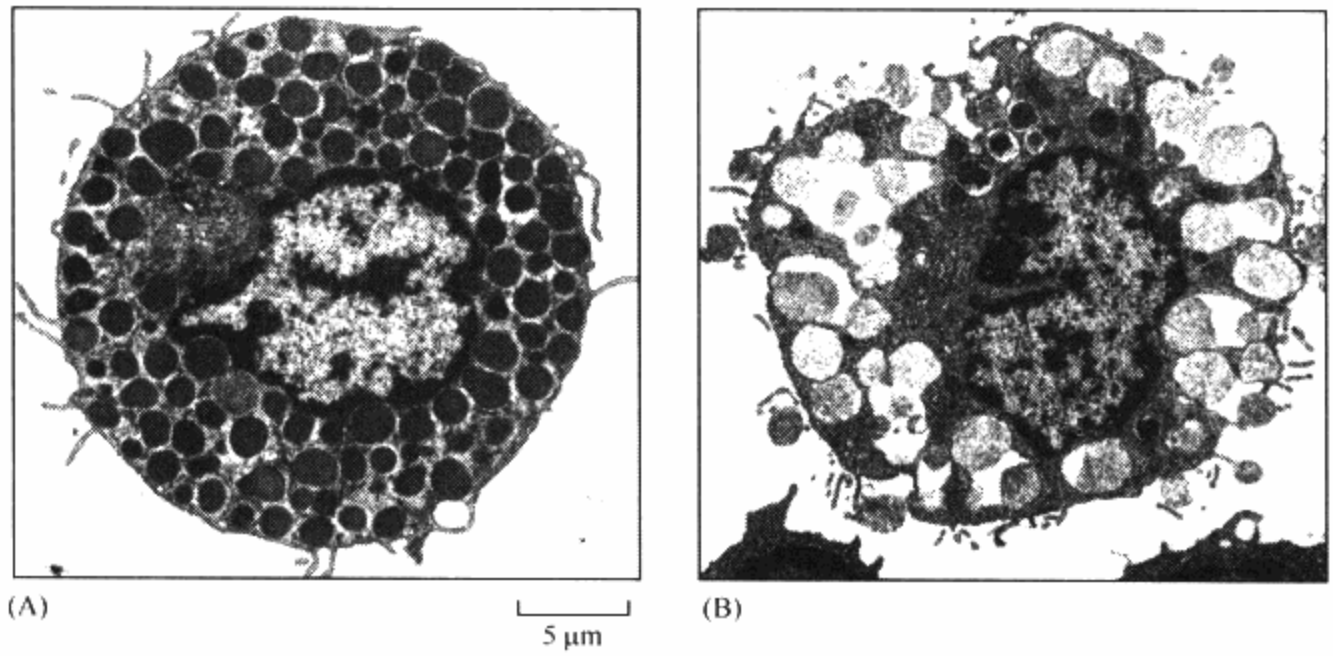


图 13-59　大鼠肥大细胞胞吐电镜图

（A）一个未刺激的肥大细胞。（B）被可溶性外源刺激物刺激的分泌组胺的细胞。含有组胺的分泌泡是黑色的，以释放内含物的分泌泡颜色浅。存在于已释放内含物的分泌泡中物质是一些糖蛋白，它们组成了一个网状结构，原来储存在分泌泡中的组胺结合其上。分泌泡与质膜融合后，几个分泌泡可能彼此融合，因此图中有几个由失效的分泌泡膜连接在一起的腔，它们的膜是与质膜连在一起的，这种连续性是空间上的（摘自 D. Lawson, C. Fewtrell, B. Gomperts, M. Raff, *J. Exp. Med.* 142: 391～402, 1975. ©The Rockefeller University Press）

900μm^2 的分泌泡膜插入到顶部的质膜（面积仅 30μm^2）上。

因此膜运输的控制对于维持细胞内的各种膜组分起到重要的作用。为了维持膜包被的区室在分泌和胞吞途径中的恒定大小，需要精确调节膜的前行和逆行运输。对生长的细胞来说，前行运输流需要比逆行运输流大，膜面积才能增大。为了使细胞维持恒定的大小，前行运输流和逆行运输流要达到平衡。我们目前对这种流量的协调控制机制还知之甚少。

极性细胞指导蛋白质从反面高尔基网状结构到达质膜合适的区域

组织中的大多数细胞是极化的，通常有两个（有时更多）不同的质膜区，接受不同类型的分泌泡的分泌。这就产生了这样的问题：细胞是如何组织从高尔基体的膜运输来维持不同的细胞表面区域的差异的呢？一个典型的上皮细胞有朝向内腔的，其上通常有特异的纤毛和微绒毛的顶部区和基底膜区。这两个区域被环状的紧密连接分隔开（图 19-3）。紧密连接阻止两个区域的蛋白质和脂质（在脂双层的外叶）的扩散，使得两区域的膜组成不同。

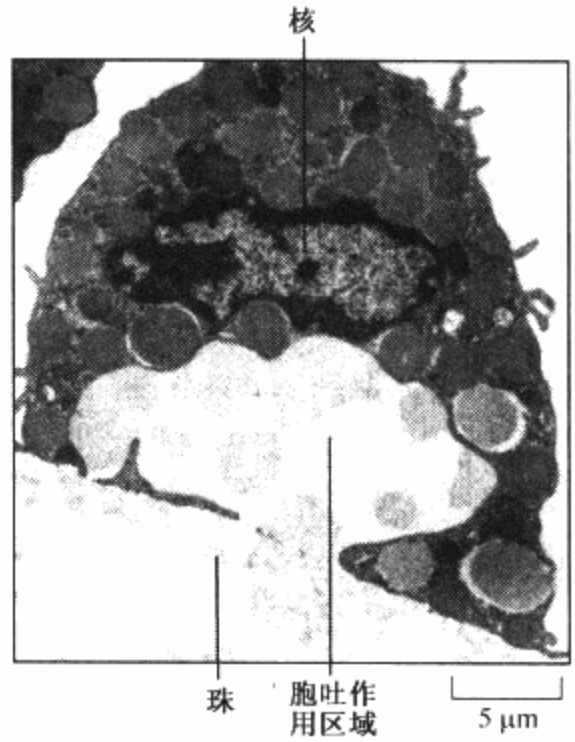


图 13-60　局部胞吐

这是一个被连接到大的固体珠上的刺激物激活的分泌组胺的肥大细胞的电镜图。只有与固体珠接触的区域发生胞吐（摘自 D. Lawson, C. Fewtrell, B. Gomperts, M. Raff, *J. Exp. Med.* 142: 391～402, 1975. ©The Rockefeller University Press）

神经细胞是另一个极性细胞的例子。突触的质膜和神经末梢接受来自其他类型的细胞的信号，而神经细胞体和树突的质膜接受来自其他神经细胞的信号。这两个区域的质膜蛋白组

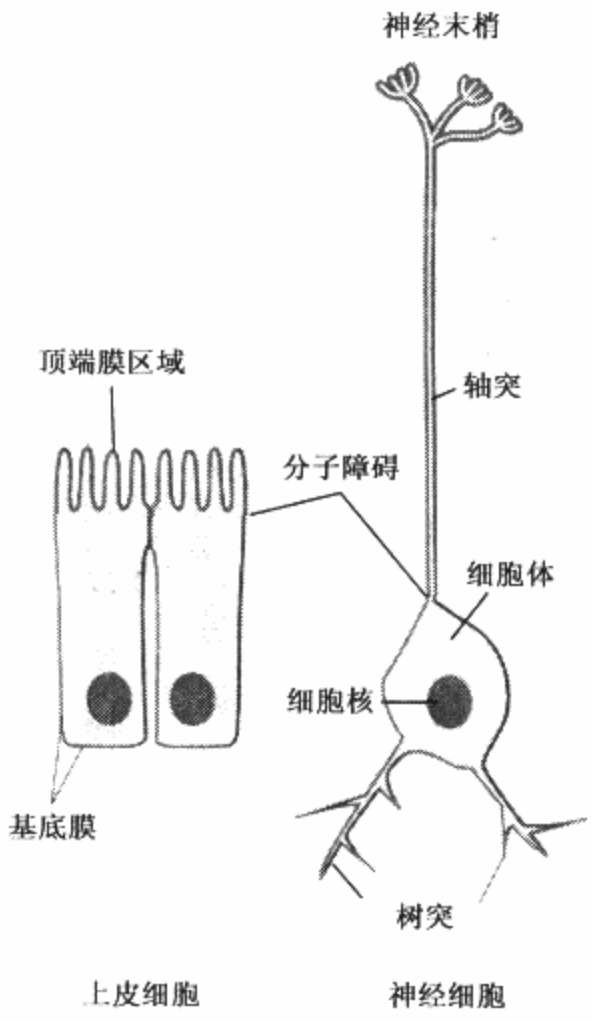


图 13-61　两种类型的极性细胞的比较

神经细胞体和树突的膜在指导蛋白质的运输的机制方面类似于极性的上皮细胞的基底膜，而轴突和神经末梢的膜类似于极性的上皮细胞的顶部的膜。这两种极性细胞的不同的膜区域是由膜蛋白组成的网状结构和与其紧密结合的机动蛋白骨架组成的由分子障碍分隔开的，在上皮细胞中叫紧密连接，在神经元中叫轴突丘。这一结构阻止不同区域的膜融合

成不同。对培养的神经细胞的蛋白质运输的研究表明，从高尔基体到达神经细胞体和树突的囊泡的膜类似于极性的上皮细胞的基底膜，而到达轴突和神经末梢的囊泡的膜类似于极性的上皮细胞的顶部的膜（图 13-61）。因此，在极性的上皮细胞中运到特异的膜区的蛋白质在神经细胞中也被运到相应的区域。

指导膜蛋白选择性地运到基底膜的胞质分选信号

原则上，质膜不同区域的差异不应该依赖于合适的膜组分的有目的的运输；相反，膜组分应该可以被不加区别地运到细胞表面的不同区域，然后被选择性地停在一些区域或者选择性地从一些区域除去。尽管在许多情况下，细胞利用这种随机运输，选择性地滞留和除去，但通常运输物是被特异性地运到合适的质膜区的。例如，上皮细胞顶部的细胞表面区通常分泌一种产物，如水解酶或黏液到肠腔中，而上皮细胞的基底膜表面区分泌另一种产物，如基底膜组分。因此细胞必须有指导不同的运输物到不同的质膜区的途径。

通过对培养的极性上皮细胞的监测，我们发现起始于内质网运往不同的质膜区的蛋白质，在到达高尔基体反面网状结构之前是共同运输的。在高尔基体反面网状结构被分开并包装进分泌泡或运输泡运往合适的质膜区域（图 13-62）。

在将被运往基底膜的膜蛋白的胞质尾部有筛选信号。我们了解了两种这样的信号，一种有一个特征的保守的酪氨酸，而另一种有两个相邻的亮氨酸。当这些氨基酸处于特定的合适的结构中时，它们将在高尔基体反面网状结构被包被蛋白识别，从而被包装进合适的分泌泡。相同的基底信号在胞内体中也起作用，指导被胞吞入内的基底膜蛋白重回基底膜。

脂筏可能介导到顶部质膜区的鞘糖脂和 GPI 锚定蛋白的筛选

大多数细胞的顶部质膜区富含鞘糖脂以保护这暴露的质膜区免受破坏，如水解酶以及胃和肠的低 pH 造成的破坏，靠糖基磷脂酰肌醇（GPI）连接在脂双层上的质膜蛋白也富集在顶部质膜区。如果利用 DNA 重组技术将一个 GPI 连在一个通常情况下运到基底膜的蛋白质上，这种蛋白质将被运到细胞的顶部质膜区。

由于 GPI 锚定蛋白能与在高尔基体反面网状结构形成的脂筏的鞘磷脂相互作用，因此被运往顶部质膜区。在第 10 章曾讨论过，当鞘磷脂和胆固醇自身聚集形成微聚集体时，在高尔基体反面网状结构和脂膜处形成脂筏（图 10-13）。有很长的跨膜区的蛋白质也能在脂筏上聚集。此外，脂筏倾向于含有 GPI 锚定蛋白和糖基结合蛋白（凝集素）以稳定这一结构（图

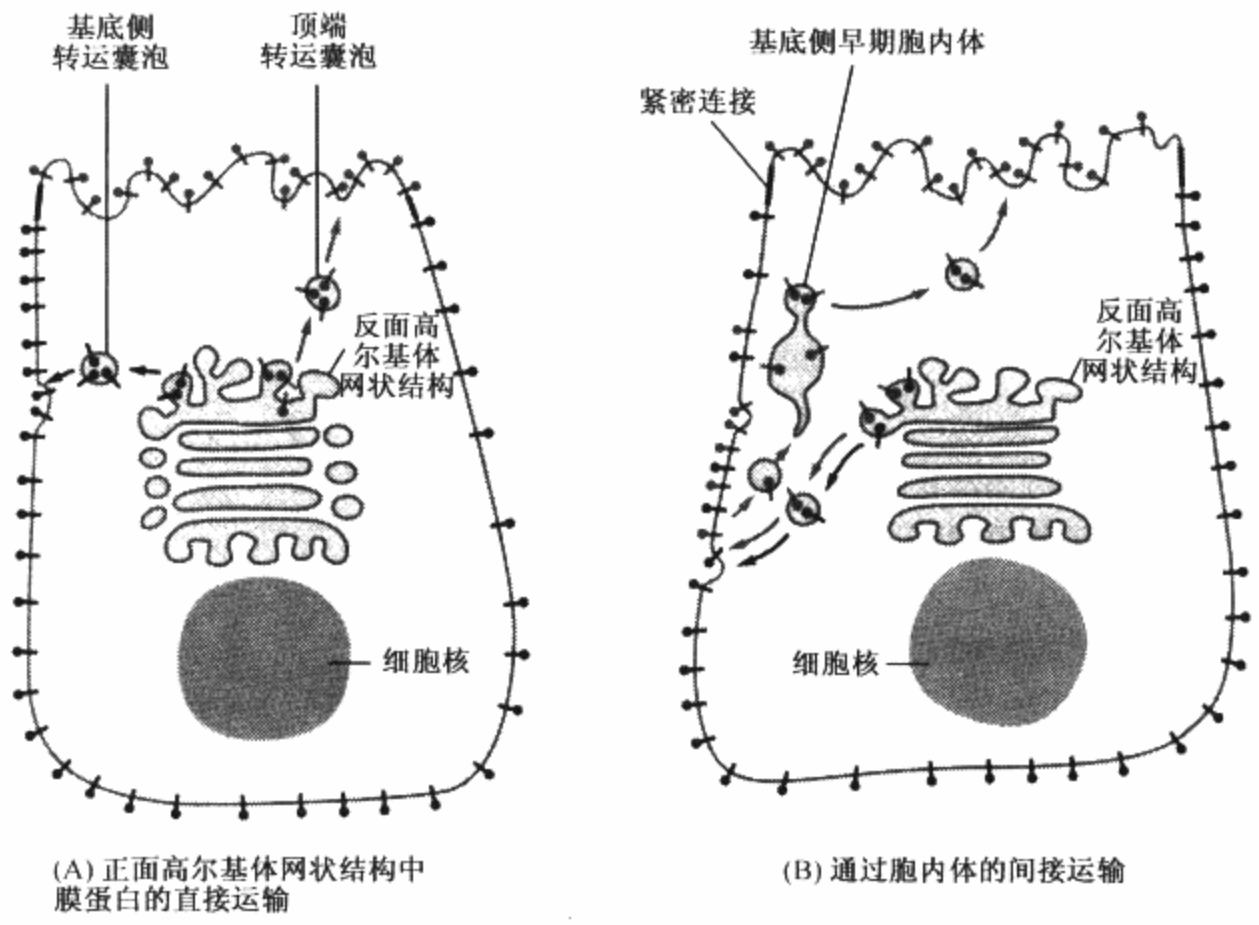


图 13-62　极性的上皮细胞筛选质膜蛋白的两种方式

新合成的蛋白质可以通过（A）直接运输或（B）间接运输的途径到达合适的质膜区。在间接运输途径中，蛋白质被从不合适的质膜区通过胞吞运回，然后经由早期胞内体运到合适的质膜区称之为转吞。目前知道肝细胞利用这种间接运输将蛋白质运到胆管细胞的顶部膜区。然而在其他情况下通常是利用直接运输途径的，如文中所讨论的肠上皮细胞（图 13-63）。

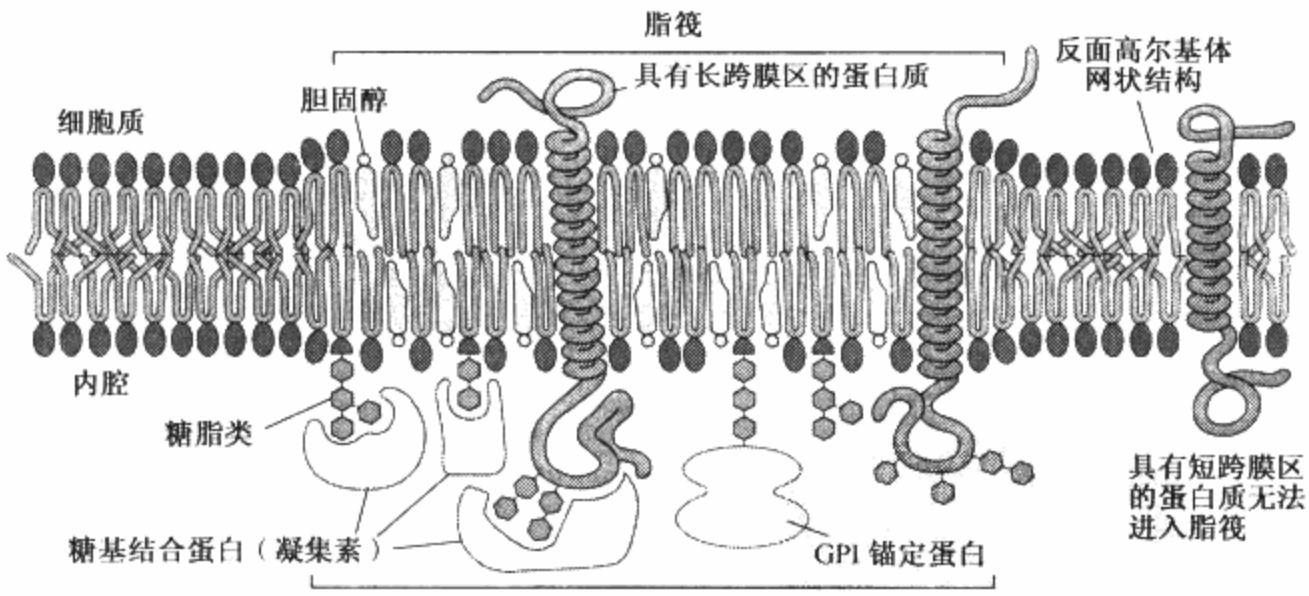


图 13-63　高尔基体反面网状结构脂筏的模型

鞘磷脂和胆固醇在脂双层上形成脂筏。有足够长的跨膜区的蛋白质倾向于进入脂筏然后被包入运输泡。这些脂筏被包入运输泡随后运到顶部质膜区。在高尔基体反面网状结构腔上的糖基结合蛋白（凝集素）可以帮助稳定脂筏，如图所示

已经选择性地结合了特定的运输物后脂筏将从高尔基体反面网状出芽到达运输泡再运往顶部质膜区。

突触泡可直接从内吞泡上形成

神经细胞（和一些内分泌细胞）中有两种类型的分泌泡。对所有的分泌细胞来说，它们将蛋白质和肽高度浓缩包装进分泌泡中然后通过调节型胞吐途径释放。此外，它们还利用一种另外的特异的小的（直径约 50nm）叫做**突触泡**的分泌泡，突触泡产生的方式不同于分泌泡。在神经细胞中这些突触泡储存小分子的神经递质，例如，乙酰胆碱、谷氨酸、甘氨酸和γ-氨基乙酸（GABA）这些调节细胞之间化学突触处的迅速的信号传递的物质。在以前讨论过，当一个动作电位到达神经末梢时触发囊泡在毫秒内释放内含物。许多神经元在 1s 内被触发 1000 多次释放神经递质。这种迅速释放时可能的，因为许多囊泡停在质膜区并为融合做好了准备，当一个动作电位引起末梢的 Ca^{2+} 流时融合就会发生。

对一个动作电位来说，只有神经末梢中一部分的突触泡与质膜融合。但是，对神经末梢来说要迅速地重复地反应需要突触泡释放后不断得到补充。因此，大多数突触泡不是从胞体的高尔基上形成的，而是通过神经末梢质膜的局部循环形成的。目前认为突触泡的膜组分是首先通过组成型的分泌途径运到质膜然后通过内吞返回，大多数内吞泡没有与胞内体融合而是立即被递质充满变成突触泡。

突触泡的质膜组分包括从胞质中吸收神经递质的载体蛋白，介导突触信号迅速传递的小分子的神经递质在胞质中合成。一旦突触泡充满了神经递质，突触泡就返回到质膜等待细胞被刺激。在释放其内含物后，突触泡的膜组分以相同的途径返回并被重新利用（图 13-64）。

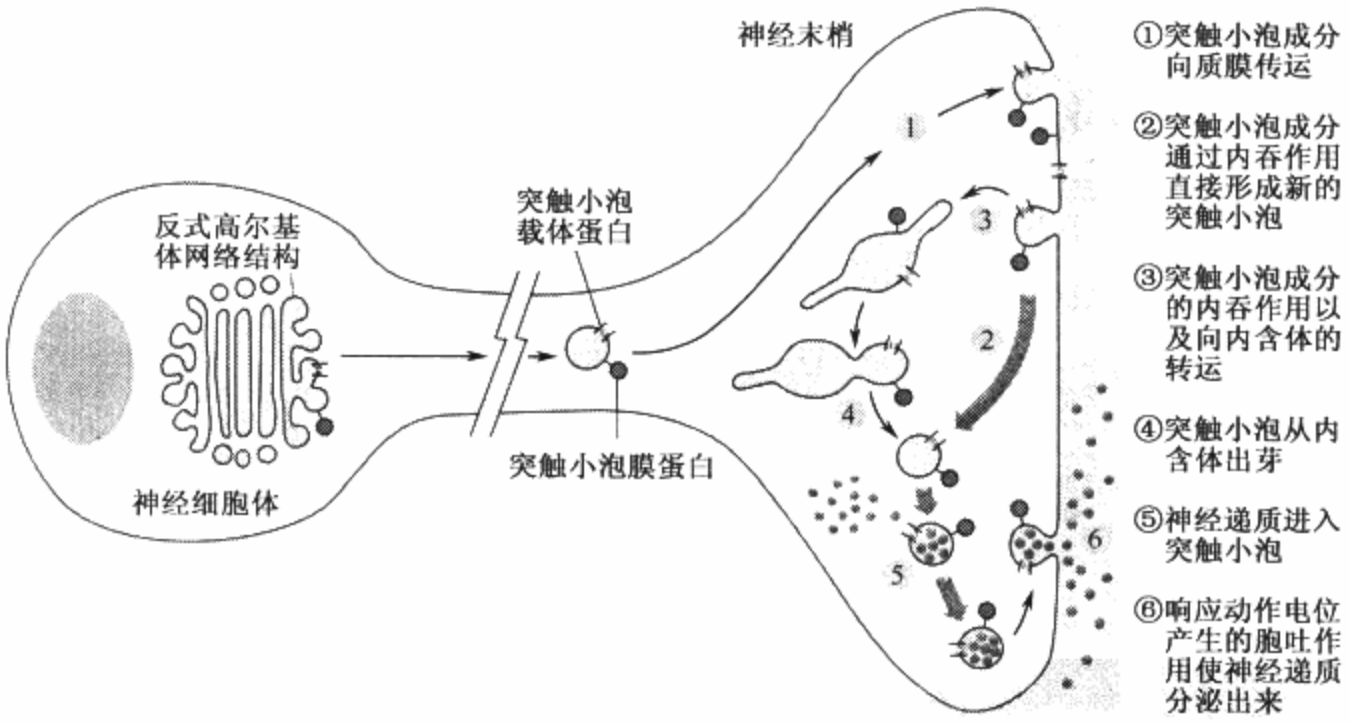


图 13-64　突触泡的形成

这些小的大小一致的囊泡只在神经细胞和内分泌细胞中被发现。它们储存并分泌小分子的神经递质。这些直接进入小的内吞泡中的递质运入是由囊泡上的质子泵维持的，并由 H^+ 梯度驱动的膜载体蛋白的对向运输介导的

小结

蛋白质可以通过组成型分泌途径或调节型分泌途径分泌到胞外。在调节型分泌途径中分泌物被储存在分泌泡中或突触泡中，直到合适的信号触发才能与质膜融合释放内含物。分泌泡从高尔基体反面网状结构出芽，分泌蛋白在分泌泡形成和成熟的过程中浓缩。突触泡仅限

于神经细胞和内分泌细胞中，是从胞吞泡上和胞内体上形成的，介导小分子的神经递质的调节分泌。这种调节途径只在特定的分泌细胞中存在，而组成型分泌途径存在于所有的真核细胞中，由起始于高尔基体到达质膜的连续的囊泡运输介导。

蛋白质一般是通过组成型分泌途径从高尔基体运到质膜的，除非它们转向另外的分泌途径或滞留在高尔基体内。在极性细胞中，从高尔基体运到质膜的是有选择性的，这样用以保证不同的膜蛋白、分泌蛋白和脂类被运到质膜的不同区域。

参 考 文 献

一般文献

Meliman I & Warren G (2000) The road taken: past and future foundations of membrane traffic. *Cell* 100, 99–112.

Pelham HR (1999) The Croonian Lecture 1999. Intracellular membrane traffic: getting proteins sorted. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 354(1388), 1471–1478.

Rothman JE & Wieland FT (1996) Protein sorting by transport vesicles. *Science* 272, 227–234.

Schekman RW (1996) Regulation of membrane traffic in the secretory pathway. In The Harvey Lectures Series 90 1994–95 (RM Evans, C Guthrie, LH Hartwell et al. eds), pp 41–57. New York: John Wiley.

The Molecular Mechanisms of Membrane Transport and the Maintenance of Compartmental Diversity

Chavrier P & Goud B (1999) The role of ARF and Rab GTPases in membrane transport. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 466–475.

Kirchhausen T (1999) Adaptors for clathrin-mediated traffic. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 15, 705–732.

Kreis TE, Lowe M & Pepperkok R (1995) COPs regulating membrane traffic. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 11, 677–706.

Novick P & Zerial M (1997) The diversity of Rab proteins in vesicle transport. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 496–504.

Nuoffer C & Balch WE (1994) GTPases: multifunctional molecular switches regulating vesicular traffic. *Annu. Rev. Biochem.* 63, 949–990.

Pelham HR (1999) SNAREs and the secretory pathway—lessons from yeast. *Exp. Cell Res.* 247, 1–8.

Pelham HR (2001) SNAREs and the specificity of membrane fusion. *Trends Cell Biol.* 11, 99–101.

Schekman R & Orci L (1996) Coat proteins and vesicle budding. *Science* 271, 1526–1533.

Schmid SL (1997) Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. *Annu. Rev. Biochem.* 66, 511–548.

Weber T, Zemelman BV, McNew JA et al. (1998) SNAREpins: minimal machinery for membrane fusion. *Cell* 92, 759–772.

Transport from the ER Through the Golgi Apparatus

Bannykh SI, Rowe T & Balch WE (1996) The organization of endoplasmic reticulum export complexes. *J. Cell Biol.* 135, 19–35.

Comer FI & Hart GW (1999) O-GlcNAc and the control of gene expression. *Biochim. Biophys. Acta* 1473, 161–171.

Ellgaard L, Molinari M & Helenius A (1999) Setting the standards: quality control in the secretory pathway. *Science* 286, 1882–1888.

Farquhar MG & Palade GE (1998) The Golgi apparatus: 100 years of progress and controversy. *Trends Cell Biol.* 8, 2–10. (Part of a special issue on the Golgi)

Fortoni ME (2000) Fringe benefits to carbohydrates. *Nature* 406, 357–358.

Glick BS (2000) Organization of the Golgi apparatus. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 450–456.

Klumperman J (2000) Transport between ER and Golgi. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 445–449.

Ladinsky MS, Mastronarde DN, McIntosh JR et al. (1999) Golgi structure in three dimensions: functional insights from the normal rat kidney cell. *J Cell Biol.* 144, 1135–1149.

Orci L, Stamnes M, Ravazzola M et al. (1997) Bidirectional transport by distinct populations of COPI-coated vesicles. *Cell* 90, 335–349.

Ruoslahti E (1988) Structure and biology of proteoglycans. *Annu. Rev. Cell Biol.* 4, 229–255.

Warren G & Malhotra V (1998) The organisation of the Golgi apparatus. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 493–498.

Waters MG & Pfeffer SR (1999) Membrane tethering in intracellular transport. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 453–459.

Transport from the *Trans* Golgi Network to Lysosomes

Amara J, Cheng SH & Smith A (1992) Intracellular protein trafficking defects in human disease. *Trends Cell Biol.* 2, 145–149.

Andrews NW (2000) Regulated secretion of conventional lysosomes. *Trends Cell Biol.* 10, 316–321.

Bainton D (1981) The discovery of lysosomes. *J. Cell Biol.* 91, 66s–76s.

Kornfeld S & Mellman I (1989) The biogenesis of lysosomes. *Annu. Rev. Cell Biol.* 5, 483–525.

Mizushima N, Yamamoto A, Hatano M et al. (2001) Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J. Cell Biol.* 152, 657–668.

Munier-Lehmann H, Mauxion F & Hoflack B (1996) Function of the two mannose 6-phosphate receptors in lysosomal enzyme transport. *Biochem. Soc. Trans.* 24, 133–136.

Storrie B & Desjardins M (1996) The biogenesis of lysosomes: is it a kiss and run, continuous fusion and fission process? *Bioessays* 18, 895–903.

Tjelle TE, Lovdal T & Berg T (2000) Phagosome dynamics and function. *Bioessays* 22, 255–263.

von Figura K (1991) Molecular recognition and targeting of lysosomal proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 3, 642–646.

Transport into the Cell from the Plasma Membrane: Endocytosis

Anderson RG (1998) The caveolae membrane system. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 199–225.

Béron W, Alvarez-Dominguez C, Mayorga L & Stahl PD (1995) Membrane trafficking along the phagocytic pathway. *Trends Cell Biol.* 5, 100–104. (Part of a special issue on phagocytosis)

Brown MS & Goldstein JL (1986) A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232, 34–47.

Fujita M, Reinhart F & Neutra M (1990) Convergence of apical and basolateral endocytic pathways at apical late endosomes in absorptive cells of suckling rat ileum *in vivo*. *J. Cell Sci.* 97, 385–394.

Hicke L (2001) A new ticket for entry into budding vesicles—ubiquitin. *Cell* 106, 527–530.

Marks MS, Ohno H, Kirchhausen T & Bonifacino JS (1997) Protein sorting by tyrosine-based signals: adapting to the Ys and wherefores. *Trends Cell Biol.* 7, 124–128

Mellman I (1996) Endocytosis and molecular sorting. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 12, 575–625.

Mostov KE, Verges M & Altschuler Y (2000) Membrane traffic in polarized epithelial cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 483–490.

Odorizzi G, Babst M & Emr SD (2000) Phosphoinositide signaling and the regulation of membrane trafficking in yeast. *Trends Biochem. Sci.* 25, 229–235.

Transport from the *Trans* Golgi Network to the Cell Exterior: Exocytosis

Burgess TL & Kelly RB (1987) Constitutive and regulated secretion of proteins. *Annu. Rev. Cell Biol.* 3, 243–294.

Jacobson K & Dietrich C (1999) Looking at lipid rafts? *Trends Cell Biol.* 9, 87–91.

Jarousse N & Kelly RB (2001) Endocytotic mechanisms in synapses. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 461–469.

Keller P & Simons K (1997) Post-Golgi biosynthetic trafficking. *J. Cell Sci.* 110, 3001–3009.

Klenchin VA & Martin TFJ (2000) Priming in exocytosis: attaining fusion-competence after vesicle docking. *Biochimie* 82, 399–407.

Lawson D, Fewtrell C & Raff M (1978) Localized mast cell degranulation induced by concanavalin A-sepharose beads, implications for the Ca^{2+} hypothesis of stimulus-secretion coupling. *J. Cell Biol.* 79, 394–400.

Martin TFJ (1997) Stages of regulated exocytosis. *Trends Cell Biol.* 7, 271–276.

Simons K & Ikonen E (1997) Functional rafts in cell membranes. *Nature* 387, 569–572.

Südhof TC (1995) The synaptic vesicle cycle: a cascade of protein–protein interactions. *Nature* 375, 645–653.

Traub LM & Kornfeld S (1997) The trans-Golgi network: a late secretory sorting station. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 527–533.

14　能量转换：线粒体和叶绿体

线粒体
电子传递链及其质子泵
叶绿体和光合作用
线粒体和质体的遗传系统
电子传递链的进化

胞质中有一系列的反应发生，但是细胞都是利用有机物分子氧化产生的能量来形成细胞内的能量货币 ATP（讨论见第 2 章）。在生命的早期就有了依赖于膜的高效的能量产生机制，从而使细胞能从广泛的资源中获取能量。例如，光合作用将光能转化为化学能，这对地球上的生命活动是至关重要的，再如我们通过有氧呼吸将食物中的能量转化为大量的 ATP。

原核生物利用质膜生产 ATP，而真核生物的质膜主要起运输作用，详见第 11 章，用来产生 ATP 的主要是能量转化细胞器内特化的膜。这些细胞器包括存在于所有真核细胞中的**线粒体**和植物中特有的**质体**，大多数情况下指的是**叶绿体**。在电镜下观察，线粒体和叶绿体的最显著的特征是有大量的内化的膜，这些膜为细胞内大多数 ATP 产生所需的电子传递提供了精密的构造。

线粒体、叶绿体和原核生物都是利用一个称为**化学渗透偶联**的途径来产生生命所需的能量的。化学渗透偶联反映了产生 ATP 的化学键形成反应和膜转运过程的联系。这种连接发生在两个相连的阶段，每一个阶段都是有嵌在膜上的蛋白质复合体执行的。

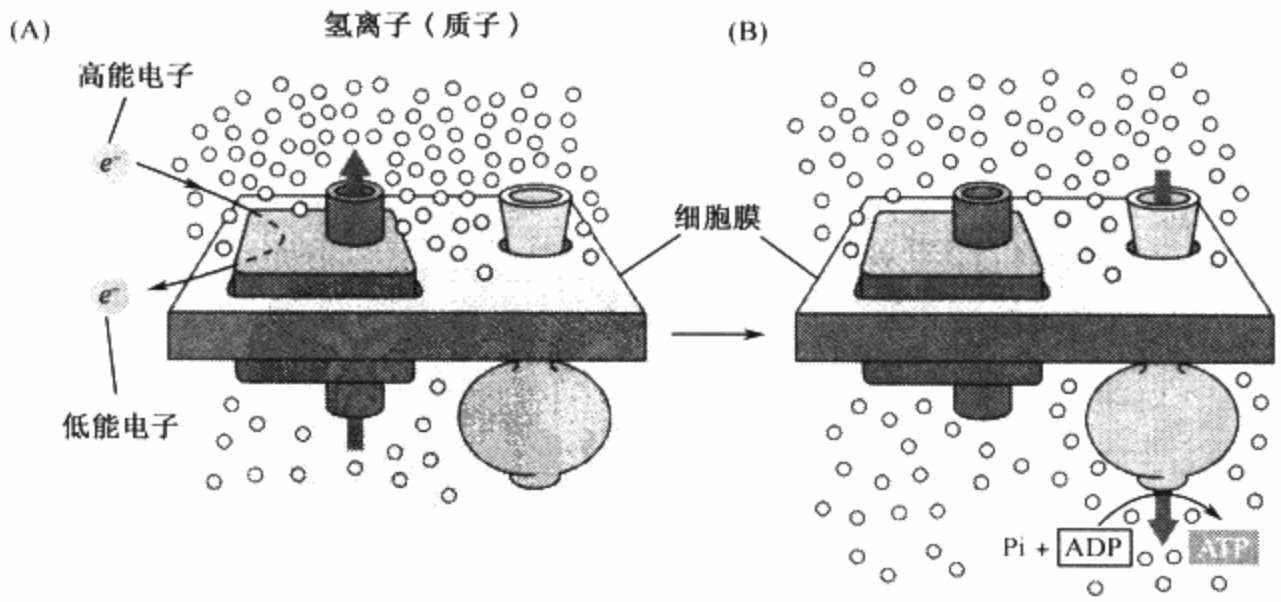


图 14-1　生命的能量

（A）电化学渗透需要一个嵌有质子泵的膜、ATP 合酶和高能电子。质子是从水分子分解得到的，质子泵利用电子传递的能量泵出质子，产生跨膜的质子梯度。（B）质子梯度作为一种储存的能量用来驱动 ATP 合酶合成 ATP。红色的箭头代表质子运动的方向

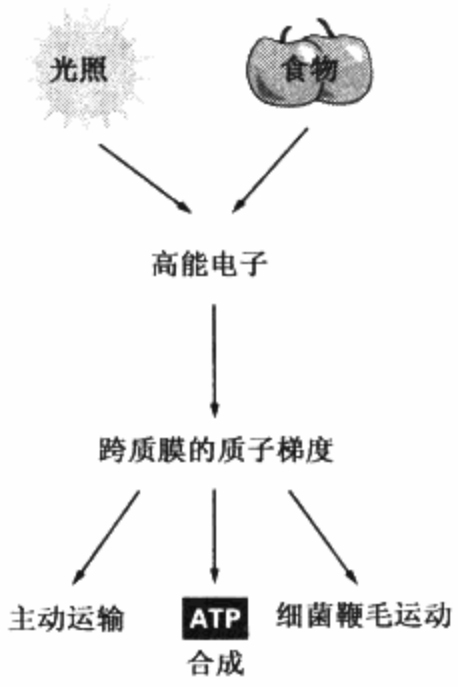


图 14-2　化学渗透耦联

来源于光能和食物氧化产生的能来自那个首先被用来产生跨质膜的质子梯度。这种质子梯度可以被用来驱动线粒体、质体和细菌中的各种需能反应

1. 第一阶段。食物氧化、光能反应和后面要讨论的其他能源产生的高能电子通过嵌在膜上的一系列电子载体传递下去，电子传递释放的能量将质子（H^+，来源于细胞内广泛存在的水分子）泵出到膜外从而产生电化学梯度。如第 11 章所述，跨膜的离子梯度是一种储能形式，当这些离子通过膜逆流回时就能被用来做一些有用的工作。

2. 第二阶段。H^+ 通过一个叫做 ATP 合酶的蛋白质复合体逆电化学梯度流动，利用能量以 ADP 和无机磷酸合成 ATP，这种广泛存在的酶是利用质子梯度驱动 ATP 合成的机器（图 14-1）。

质子电化学梯度也可以用来驱动其他的膜镶嵌蛋白机器（图 14-2）。在真核生物中，特异的蛋白质可以将特异的代谢物的跨细胞器膜的运输和 H^+ 流的衰减联系在一起；在细菌中，质子电化学梯度不仅驱动 ATP 的合成和运输过程，作为一种直接的可利用的能量的储存的形式，它还能驱动细菌鞭毛的运动使细菌游动。

将线粒体中利用化学能转化能量的过程和质体中利用光能转化能量（图 14-3）的过程进行比较是非常有用的。在线粒体中，有机物氧化分解生成 CO_2 的过程中释放出电子，电子沿着膜上的一系列电子载体传递，最终将氧气还原成为水。电子传递过程中自由能将释放的自由能驱动 3 个内膜上的质子泵，第 3 个质子泵催化电子到氧气转化［图 14-3(A)］。

电子传递机制可以被形象地比作通过一系列电子马达驱动的电流传递，然而生物系统的电子传递不是通过电线而是靠膜上可扩散的载体将电子从一个地方运到另一个地方。NAD^+ 是线粒体上的第 1 个电子载体，吸收 2 个电子（见上 2 个质子）变成 NADH。它是一个水溶性的分子，将电子运到线粒体内膜上。电子传递涉及膜上的全部的蛋白质和所有小分子组成**电子传递链**。

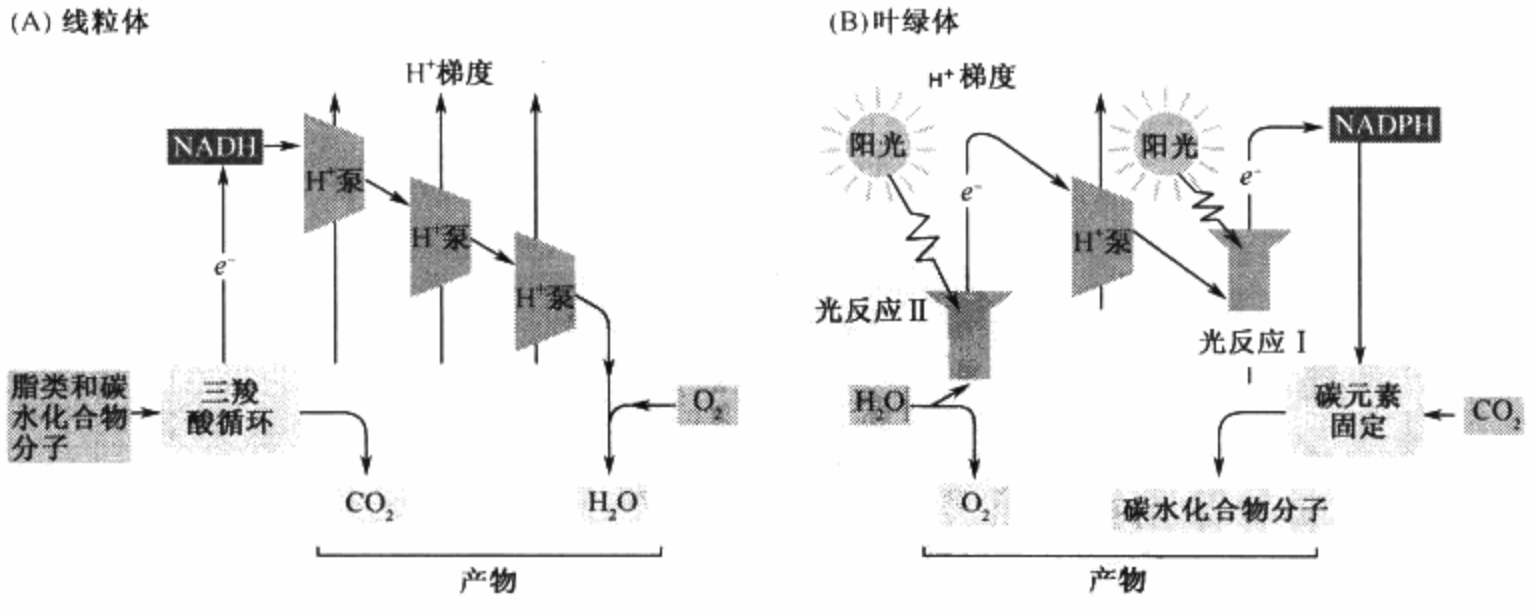


图 14-3　电子传递过程

(A) 线粒体利用化合物产生能量。(B) 质体利用光能产生能量。入射光是浅绿光，出射光是蓝光，电子传递路径用红色箭头表示。每一种蛋白质复合物（橘黄色）都镶嵌在膜上。需要指出的是质体中的两个光系统产生的电子传递的驱动力是电子从水分子传递到碳水化合物中，这个方向正好和线粒体中的方向相反。在线粒体中氧气和碳水化合物是输入分子而在质体中是产物

质体中电子传递中主要的组分和线粒体是相同的，但是也有一些关键的成分是线粒体所没有的。最显著的差异就是光系统，质体中的两个光系统产生的电子传递的驱动力驱动电子传递的方向正好和线粒体中的方向相反：水吸收电子产生氧气，然后通过 NADPH 传递到 CO_2 是合成碳水化合物。质体产生氧气和碳水化合物而线粒体消耗氧气和碳水化合物［图 14-3(B)］。

现在普遍认为真核生物中产生能量的细胞器是由最初的真核细胞吞入的原核生物通过与细胞形成共生关系进化而来的。这就可以解释为什么线粒体和叶绿体含有一些能编码自身所需蛋白质的 DNA 了。自从被宿主吸收以后，这些细胞器逐渐失去了它们的大多数的基因组，越来越依赖于核基因所编码的、在胞质中合成的然后运到细胞器中的蛋白质。相反，宿主越来越依赖于这些细胞器的 ATP 合成能力和选择性的生物合成反应。

线粒体

人们通常将**线粒体**描述为僵硬的、长的柱状结构，直径 0.5～1μm，大小和细菌相当。然而肝细胞的缩时显微电镜显示线粒体是一种高度动态的、可塑性的细胞器，不断的改变形状（图 14-4）还有的彼此融合然后又分开。线粒体通常结合在微管（图 14-5）上胞质中运动，从而决定了线粒体在不同细胞类型中的方向和分布。因此，线粒体在有些细胞中形成长的可移动的纤维状或链状结构，而在有些细胞中就固定在特定的需要高能量的位置直接供应所需的 ATP。例如，在心脏肌肉细胞中线粒体集中在肌原纤维附近，在精子中环绕在鞭毛上（图 14-6）。

图 14-4　线粒体的可塑性

当追踪一个肝细胞中线粒体时会发现它的形状改变很快

线粒体体积很大在光镜下就可以看到。线粒体是在 19 世纪被发现的，但是真正对线粒体的了解还得归功于 1948 年发展的分离完整线粒体的技术。由于技术的原因，大多数的生化研究都是基于纯化的肝细胞的线粒体开展的。每个肝细胞含有 1000～2000 个线粒体，占整个细胞体积的 1/5。

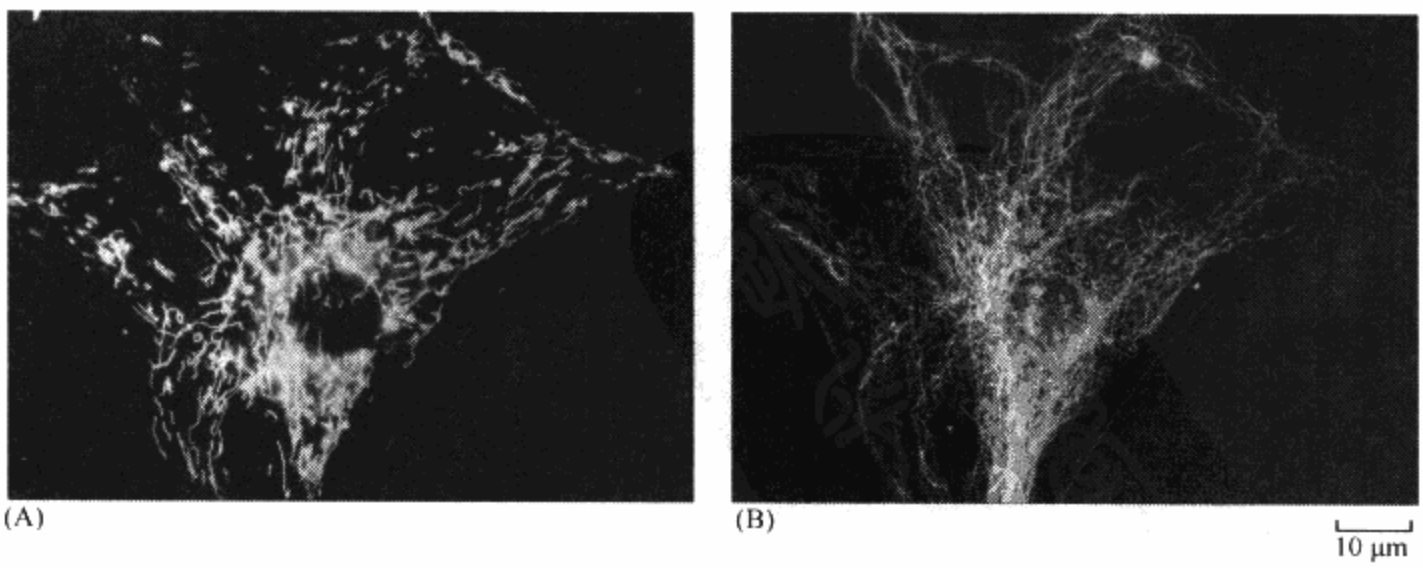


图 14-5　线粒体和微管的关系

（A）一个培养的活的哺乳动物细胞线粒体链的光学显微照片。细胞用特异的标记线粒体荧光染料（rhodamine 123）染色。（B）相同细胞的免疫荧光电镜图。细胞固定后用抗微管的荧光抗体染色。线粒体倾向于沿着微管分布（经 Lan Bo Chen 许可）

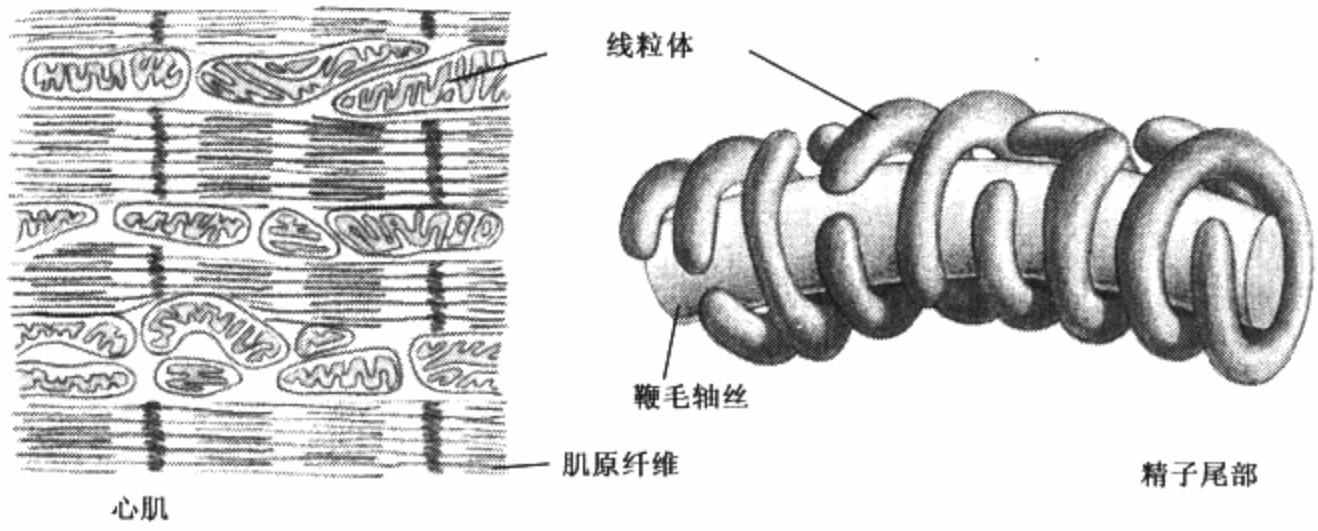


图 14-6　线粒体在需要高能 ATP 的心脏肌肉细胞和精子中的位置

在精子中尾部鞭毛的发育过程中，微管环绕在纤维束上帮助线粒体定位其上，线粒体彼此融合形成了图中所示的结构

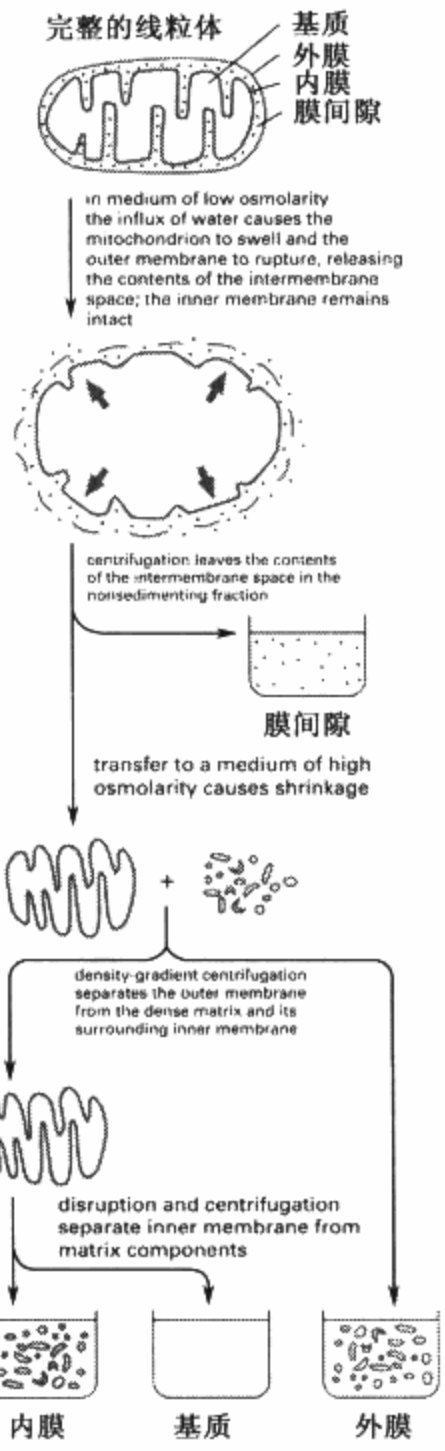
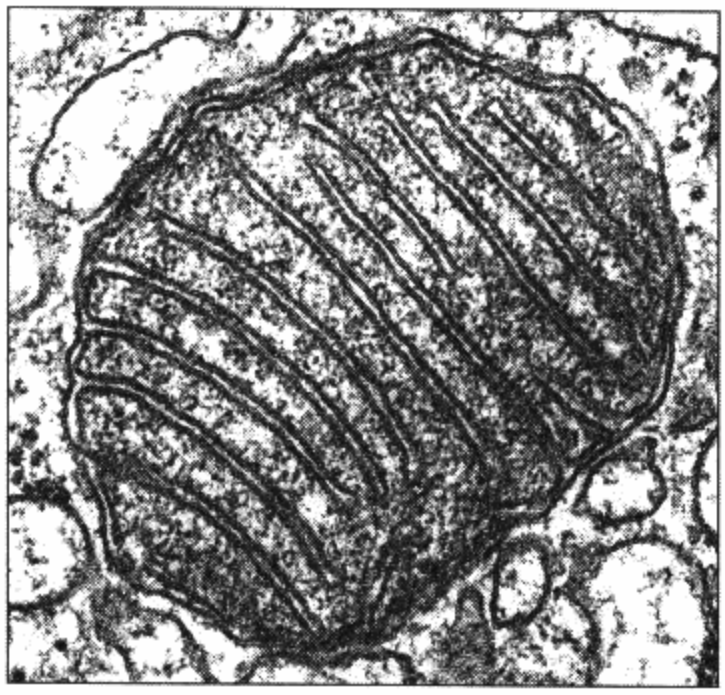


图 14-7　纯化的线粒体的各区隔的化学组成

这些技术的应用使我们能够研究线粒体不同区隔的蛋白质组成。图示的方法能一次同时处理大量线粒体，它利用的原理是在低渗溶液中水渗入线粒体使基质空间（黄色）大大膨胀，内膜由于嵴的存在能适应这种膨胀，而外膜没有嵴所以涨破，保留住一个只有内膜和基质组成的结构

线粒体由内外两层膜和两个内部区隔组成的

线粒体由内外两层功能不同且高度特异的膜封闭，内膜以内是基质，内外膜之间的腔隙是膜间隙。温和地解离纯化的线粒体然后离心分离各组分（图 14-7）。线粒体内外膜和之间的空间的组分都可以被确定。如图 14-8 所示，每一部分都有特异的蛋白质组分。



100 nm

基质：基质大的内部空间中含有大量的酶，催化丙酮酸、脂肪酸氧化和三羧酸循环的酶类均位于基质中，此外基质中还包括线粒体DNA（mtDNA），特异的70S 型核糖体，tRNA和各种线粒体基因表达所需的酶类。

内膜：内膜（红色）折叠形成大量的嵴，显著扩大了内膜的表面积。其上有3种不同类型的蛋白质：①电子传递链所需的酶；②ATP合成酶；③允许代谢物进出基质的载体蛋白。内膜的两侧形成的pH梯度驱动ATP合成因此线粒体内膜对离子和带电的小分子是高度不通透的。

外膜：外膜上含有大量的形成离子通道的蛋白质，（孔蛋白porin）构成的，允许分子质量为5kDa 以下的分子通过。此外还有线粒体脂合成所需酶和将脂转化成基质中可代谢的物质的酶。

膜间隙：膜间隙空间（白色）中有一些利用基质中合成的ATP磷酸化其他核苷酸的酶。

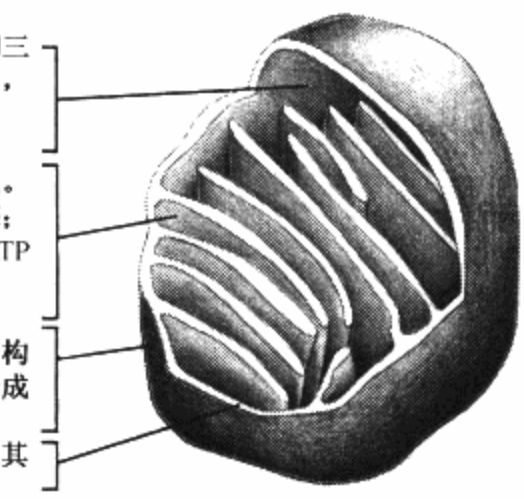


图 14-8　线粒体的一般组织

在肝细胞中约 67%的蛋白质在基质中，21%在内膜，外膜含量为 8%，膜间隙 6%。下面我们会详述每一区隔都含有一套行使特异功能的蛋白质

外膜上含有大量的叫做孔蛋白的跨膜蛋白（讨论见第 11 章），在脂双层上形成亲水的离子通道。膜就像一个筛子一样允许分子质量为 5kDa 以下的分子和蛋白质通过，它们可以通过膜间隙但大多数不能穿过非通透性的内膜。因此膜间隙的小分子和胞质中达到化学平衡而基质中的小分子是高度选择性的。

下面我们会详细讨论，线粒体的主要功能区是基质和围绕其中的**内膜**。内膜是高度特异性的，心磷脂含量高，心磷脂含有 4 条脂肪链使得内膜通透性很低仅允许不带电荷的小分子物质通过。膜上还含有大量的转运蛋白选择性的使那些代谢产生的小分子和基质中的许多酶所需的小分子物质通过。氧化的终产物是 NADH 和细胞排出的无用的 CO_2。NADH 是沿着**呼吸链**（专指线粒体中的电子传递链）传递的电子的主要来源。参与呼吸链的酶嵌在线粒体

内膜上，这些酶对产生大多数 ATP 的氧化磷酸化是必需的。

膜向线粒体基质褶入形成**嵴**，大大增加了内膜的表面积。例如，在肝细胞中线粒体内膜占整个细胞膜的 1/3，而心脏肌肉细胞中线粒体中嵴的数量比肝细胞中的 3 倍还多，可能是由于心脏细胞需要大量 ATP 的原因。不同类型的细胞中的线粒体酶的差异也很大。在这一章中我们将更多关注与所有线粒体的共性的知识，对这些差异不做详述。

柠檬酸循环产生高能电子

如前所述，如果没有线粒体，现在的真核生物只能依靠效率相对较差的糖酵解过程（讨论见第 2 章）来产生所有的 ATP，这种方法产生的能量对复杂的多细胞生物体来说似乎远远不够。当葡萄糖通过糖酵解转化成丙酮酸，葡萄糖中不到 10%的潜在可利用能量被释放出来。在线粒体中，糖的代谢被完成，其中的能量充分的释放出来，每分子葡萄糖氧化产生大约 30 分子的 ATP。而糖酵解过程每分子葡萄糖只产生 2 分子 ATP。

在线粒体中丙酮酸和脂肪酸都可作为能量的来源。丙酮酸来自于葡萄糖和其他糖类，脂肪酸来自于脂肪。这两种能量分子进入线粒体内膜然后被位于线粒体基质的酶转化成至关重要的代谢中间物乙酰辅酶 A。其中的乙酰基随即经三羧酸循环（讨论见第 2 章）在基质中被氧化，碳原子转化成二氧化碳从细胞中释放出去。**三羧酸循环**产生的高能电子储存于活性分子 NADH 和 $FADH_2$（图 14-9）。这些高能电子转入线粒体内膜后进入电子传递链；NADH 和 $FADH_2$ 失去电子被还原成 NAD^+ 和 FAD，NAD^+ 和 FAD 回到氧化代谢过程中继续被使用。整个反应过程见图 14-10。

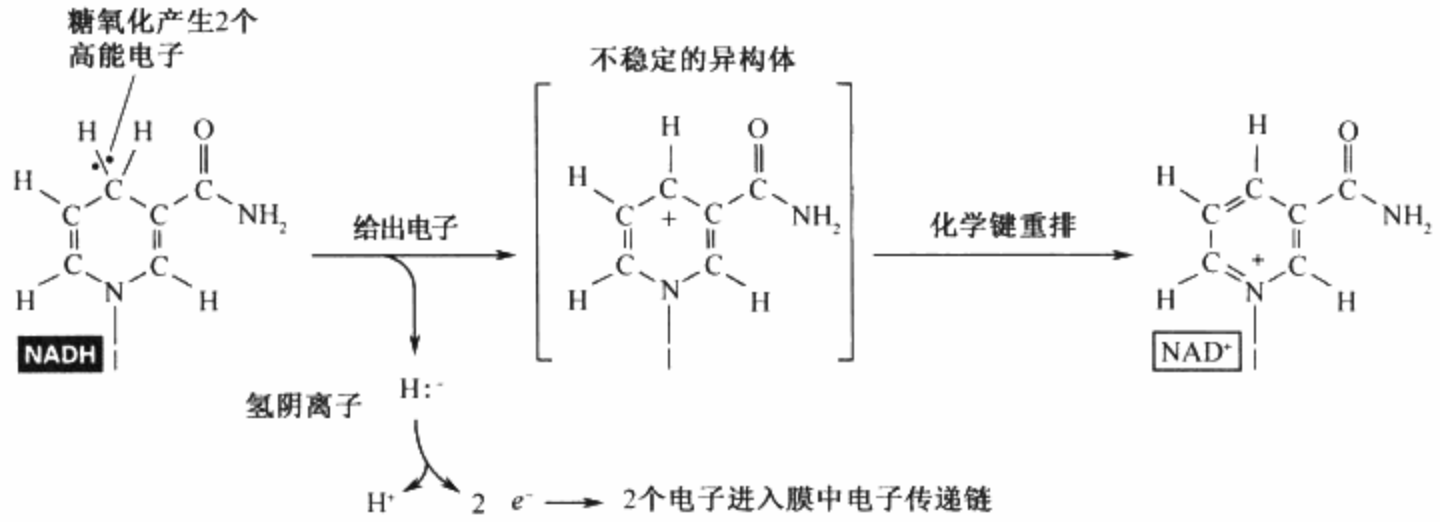


图 14-9　NADH 给出电子的过程示意图

图中，红色圆点代表高能电子，黄色的部分代表氢原子。从 NADH 解离出氢阴离子（H^-，由一个氢原子和一个电子结合而成）。经反应 $H^- \rightarrow H^+ + 2e^-$。氢阴离子又转化成 1 个质子和 2 个高能电子。高能电子进入电子传递链，NAD^+ 经过与图 2-60 所示的 NADPH 相似的途径又转变成 NADH。$FADH_2$ 的电子转变过程与该图类似见图 2-80

化学渗透过程将氧化能量转化成 ATP

三羧酸循环虽然被认为是有氧代谢的一部分，但它本身不直接利用氧气，只有最后在线粒体内膜发生的分解代谢才消耗氧气。由氧化糖类、脂肪和其他食物产生的几乎所有的能量最初都储存在 NADH 和 $FADH_2$ 所携带的高能电子中，这些高能电子在线粒体内膜上发生的呼吸链上和氧气结合。此过程产生的巨大能量驱动 ADP 与 Pi 反应产生 ATP。由于这个原因，氧化磷酸化这一术语用来描述这个反应（图 14-11）。

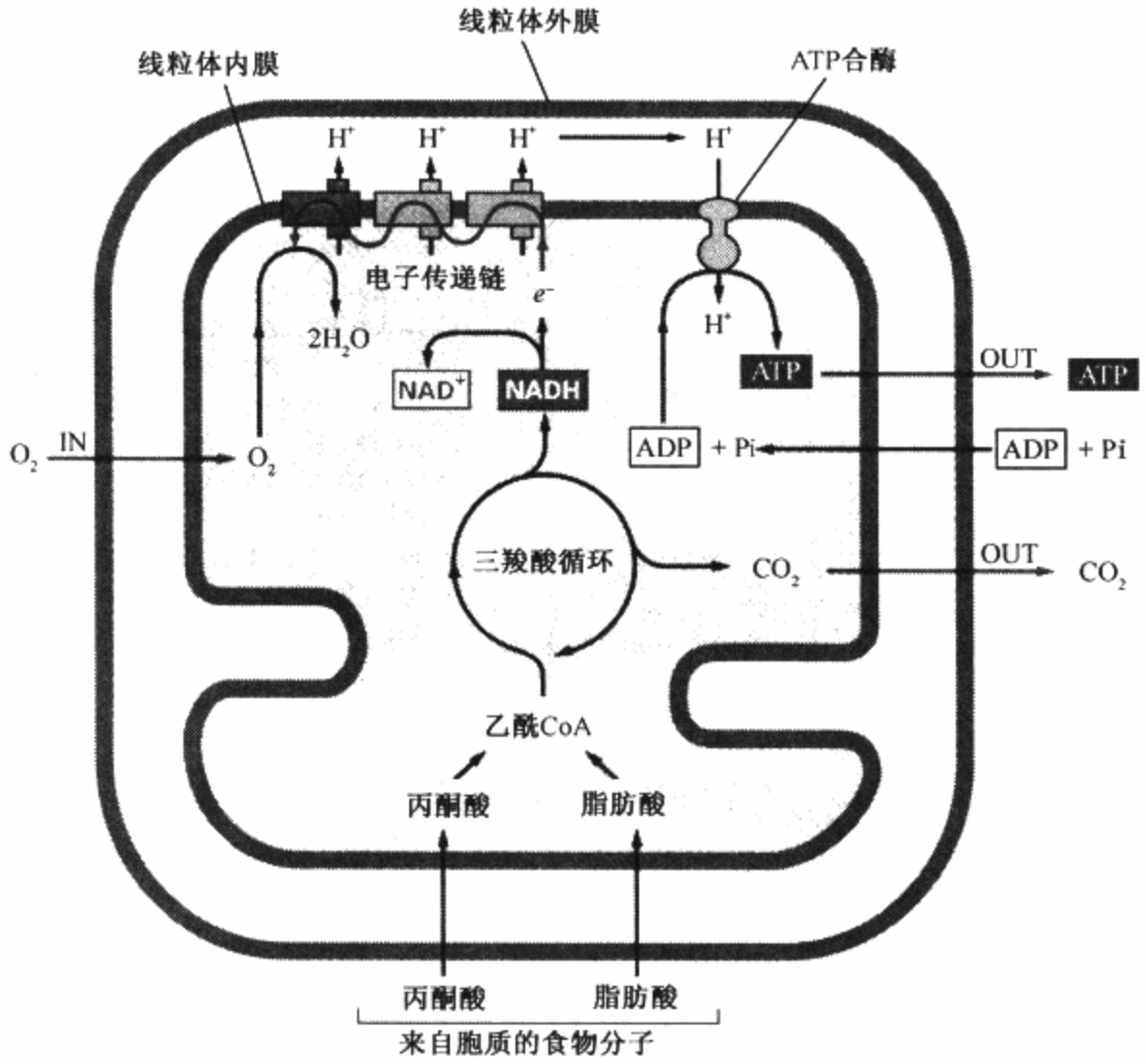


图 14-10　线粒体产能代谢总过程示意图

进入线粒体的丙酮酸和脂肪酸（图下方）首先降解成乙酰 CoA。乙酰 CoA 随后进入三羧酸循环，将 NADH 还原成 NAD^+（$FADH_2$ 转变成 FAD，图中未显示）。氧化磷酸化过程，由 NADH（和 $FADH_2$）产生的高能电子顺内膜上的电子传递链传给氧（O_2）。而有电子传递所产生的跨线粒体内膜质子梯度能够驱动 ATP 合酶合成 ATP（图 14-1）。细胞质中糖酵解过程产生的 NADH 同样通过呼吸链传递电子。由于 NADH 不能穿过线粒体内膜，它所产生的电子需要通过其他的还原性的化合物间接完成。这些分子重新氧化后，回到细胞质中，又被还原成 NADH

氧化磷酸化产生的 ATP 依赖于化学渗透过程。第一次提出此过程是在 1961 年，该机制解决了细胞生物学长期存在的难题。但是，由于这种解释太新颖而没有足够的证据支持，长期得不到承认。

在其余的部分，我们简要介绍一下氧化磷酸化的反应类型，然后详细地讲述呼吸链过程。

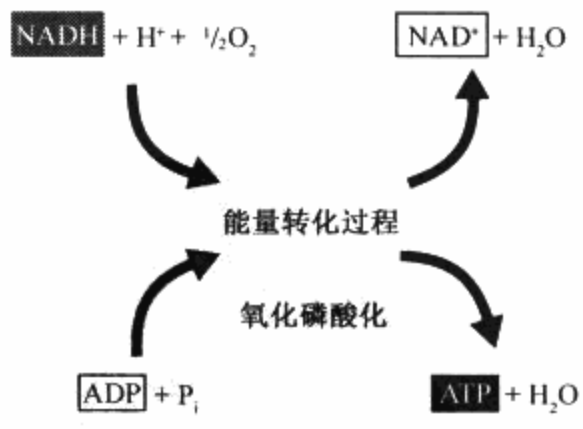


图 14-11　线粒体中的能量转化示意图

在氧化磷酸化过程中，线粒体的内膜类似于一台能量转换的机器，一种形式的化学键能转化成另一种形式的化学键能。NADH（和 $FADH_2$）中储存的能量转化成 ATP 中的磷酸键能

电子经 3 个大的呼吸过程酶复合体的催化由 NADH 传给 O_2

虽然呼吸链产生能量的机制与其他分解反应产生能量的机制不同，但原理是一样的。$H_2+1/2O_2 \rightarrow H_2O$ 这一反应被分解成许多小的反应进行，这样每步产生的能量就可以储存下来而不是以热量的形式释放到周围的环境中。氢原子先分解成质子和电子，电子有一系列的电子载体运载穿过线

粒体内膜。反应过程中，质子与电子有几步短暂结合。只有电子到达传递链末端，质子才与电子永久分开，而去参加中和电子与氧结合产生的负电荷（图 14-12）。

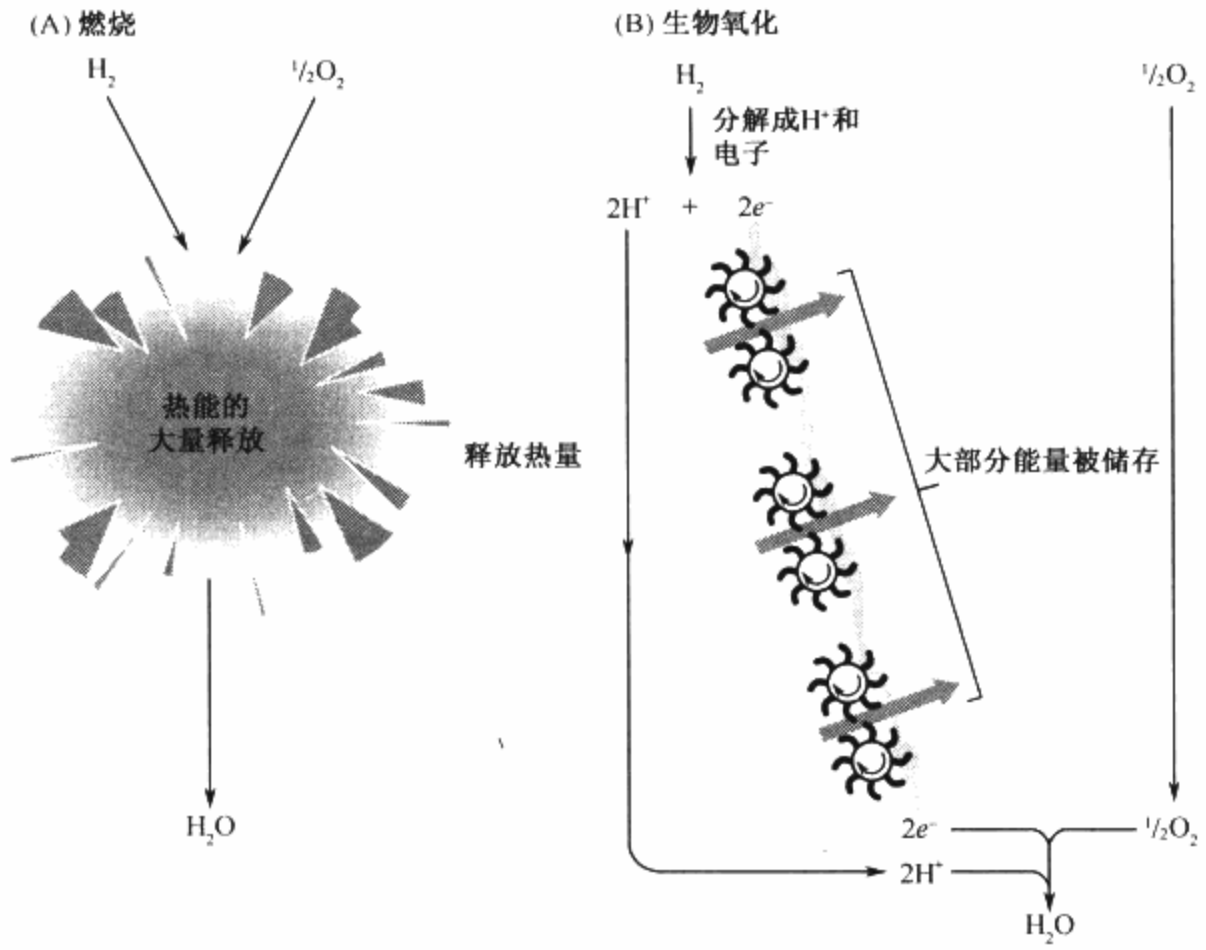


图 14-12　生物体内进行的氧化作用与燃烧的比较

（A）氢简单燃烧产生的大部分是热量。（B）通过线粒体内膜上的电子传递链所产生的能量被细胞所利用，小部分氧化反应产生的能量以热量形式散失。图中所示的质子和电子来自于 NADH 和 $FADH_2$

当 NADH 还原产生氢阴离子（产物还有 NAD^+），氢阴离子再转变成质子和 2 个电子（$H^- \rightarrow H^+ + 2e^-$）的时候电子传递过程开始。这 2 个电子在呼吸链中的传递用到了不止 15 个不同的电子载体，并且开始具有很高能量的电子在传递过程中能量逐渐丢失。电子由一个金属离子传递到另一个，与金属离子结合的蛋白质控制着电子与金属离子之间的亲和力。这些蛋白质结合成 3 个大的呼吸过程酶复合体，每一个复合体都包含跨膜蛋白将复合体牢牢地固定在线粒体内膜上。按电子传递的顺序，下一个复合物总是比上一个复合物与电子的结合力更强，直到传递到与电子结合最紧密的氧气为止。

随着电子传递，能量以形成电化学梯度的方式储存

氧化磷酸化过程离不开电子载体与蛋白质分子的结合，蛋白质引导电子沿着传递链从一个酶复合体传递到另一个。更重要的是，电子的传递伴随着 H^+ 的摄取和释放以及能量转换蛋白的变构过程。最终，电子传递使得 H^+ 由线粒体基质泵到线粒体膜间隙。H^+ 的这种移动产生了两种后果：

1. 在线粒体膜两边产生了 pH 梯度，且线粒体基质高于细胞溶胶（pH 约 7）（因为小分子很容易通过线粒体外膜达到平衡，因此线粒体间隙与细胞溶胶的 pH 相同）。

2. 在线粒体内膜两边产生电压梯度。内部为负压，外部为正压（正离子由胞内流到胞外）。

这种 pH 梯度（ΔpH）可以驱动 H^+ 回到基质，而 OH^- 泵出机制，加大膜两边的电压

（ΔV）。ΔpH 和 ΔV 一起构成了**电化学质子梯度**（图 14-13）。

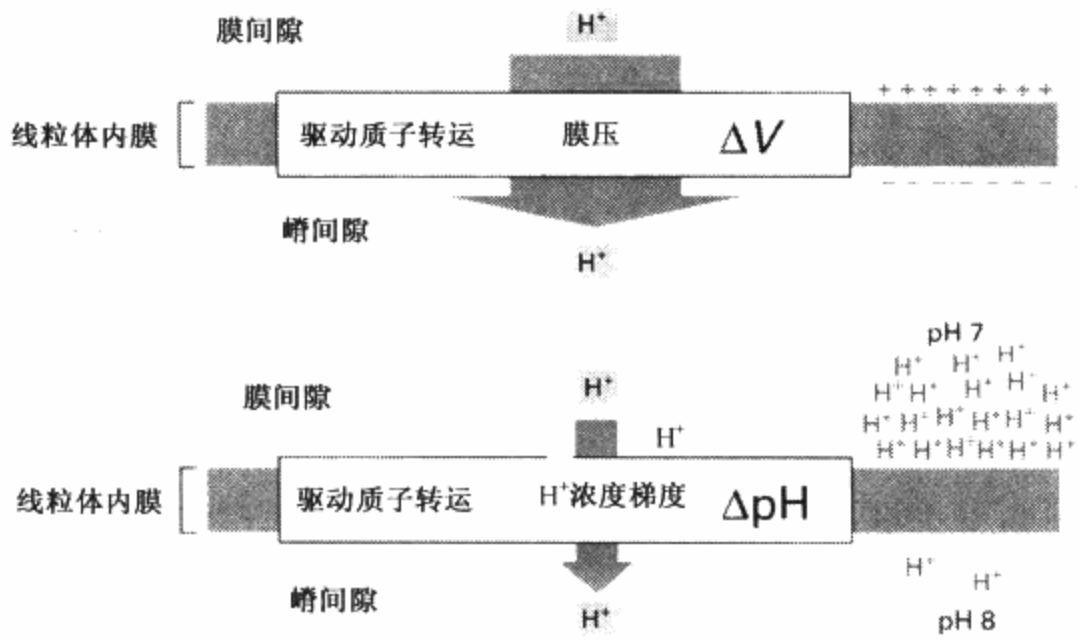


图 14-13　电化学质子梯度的两个组分

跨线粒体内膜的质子动势是由大部分的膜压（一般用 $\Delta\Psi$ 所表示，本书中以 ΔV 表示）和小部分的质子浓度梯度（ΔpH）所组成。这两种力量驱动 H^+ 转运到基质内

电化学质子梯度利用的是以 mV 为单位的**质子动势**。由于一个单位的 ΔpH 相当于 60mV 的膜压（ΔV），总的质子动势就等于 $\Delta V - 60$（ΔpH）。在一个正在进行呼吸作用的典型的细胞中，线粒体内膜两边的质子动势大约是 200 mV，膜压为 140 mV，pH 梯度大约为 −1 个单位。

质子梯度驱动 ATP 合成

跨膜的电化学质子梯度在氧化磷酸化过程中的作用是驱动 ATP 的合成（图 14-14）。ATP 合成过程中一个关键的酶是 **ATP 合酶**。该酶中央有亲水通道，允许质子顺着电化学梯度流动。伴随着质子的跨膜流动，ADP 与 Pi 合成 ATP，这个反应是耗能的。ATP 合酶是一个相当保守的酶，在动物细胞的线粒体、植物和藻类的叶绿体以及细菌和古细菌的质膜中都被发现。

ATP 合酶的结构见图 14-15。又叫 F_0F_1-ATP 合酶，该酶由多个亚单位组成，分子质量大于500 000Da。酶的头部向线粒体基质突起像个棒棒糖，由 6 个亚单位组成环形。伸长的柄连接头部以及一组用来固定的跨膜蛋白——“定子”，另外 10～14 个亚单位组成的圆形“转子”也与“定子”接触。当质子通过由“转子”-“定子”组成的通道时，导致“转子”开始旋转。而有柄连接的头部也跟着快速旋转。

ATP 合酶头部 6 个亚基中的 3 个具有与 ADP 和无机磷酸结合的位点。柄的旋转引起的头部蛋白构象的变化，将机械能转化成化学键能驱动 ATP 的合成。该种转化每秒钟可产生超过 100 个分子的 ATP，产生 1 个 ATP 的同时需要 3 或 4 个质子穿过该酶。

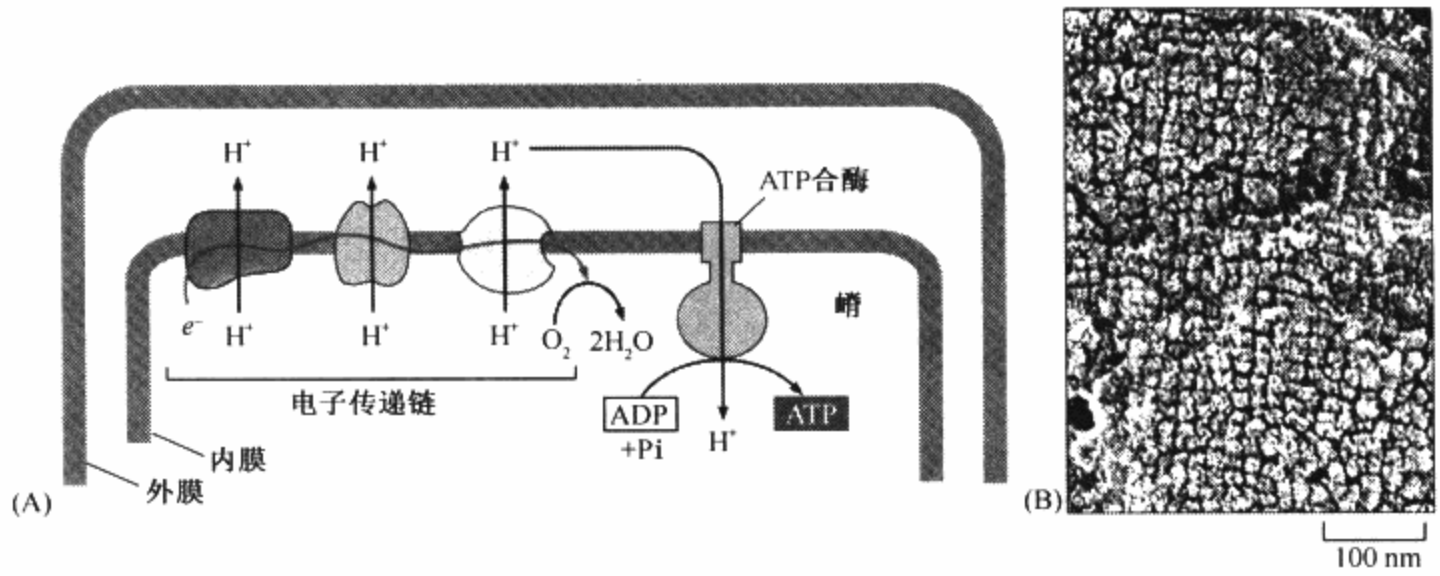


图 14-14　氧化磷酸化的运行机制

（A）高能电子沿电子传递链传递时，产生的能量可驱动呼吸链的三大酶复合体将 H^+ 从基质中泵出。H^+ 穿过 ATP 合酶回到基质时，驱动 ADP 和 Pi 在基质中合成 ATP。ATP 合酶是跨膜蛋白复合体。（B）植物细胞线粒体内膜内表面的电子图片。从图中可以看见，那些浓密排列的小颗粒是 ATP 合酶向基质突起的部分和呼吸酶复合体

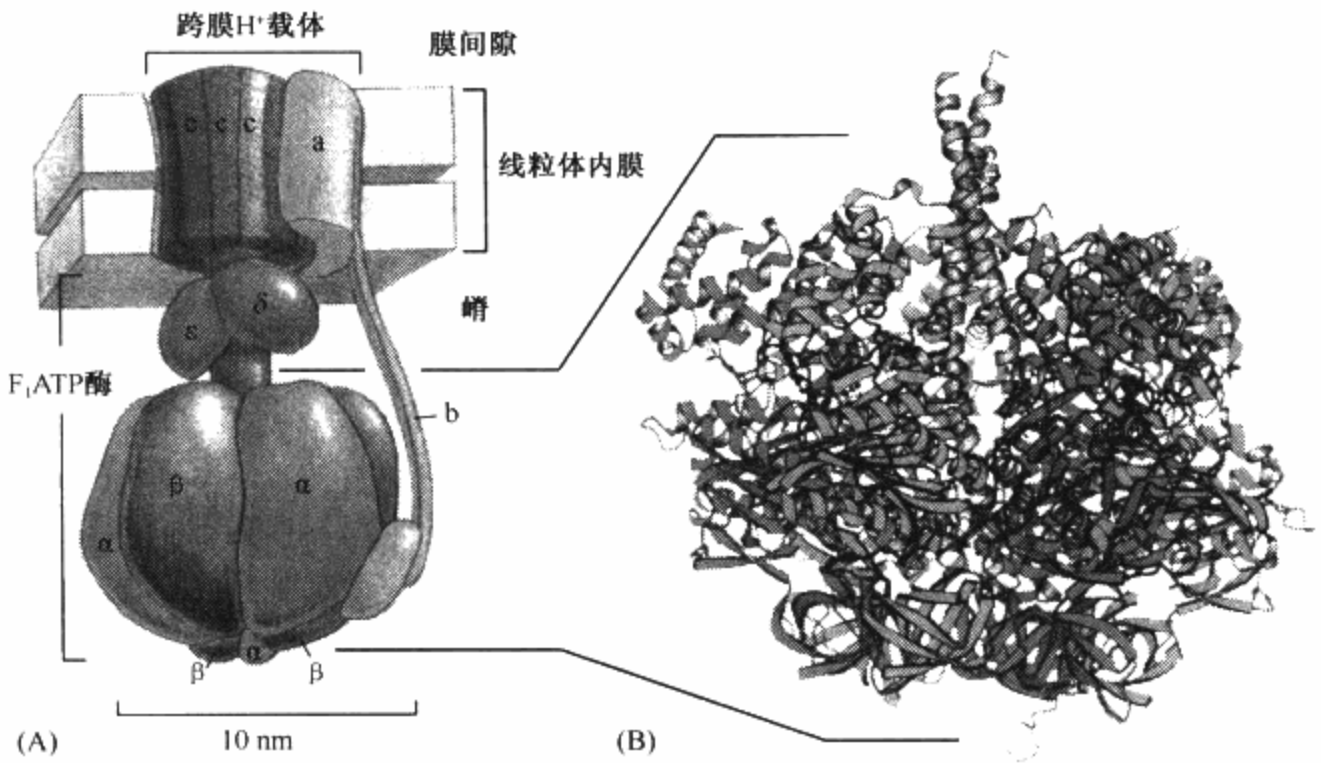


图 14-15　ATP 合酶示意图

（A）该酶由头部 F_1 ATP 酶和跨膜 H^+ 载体 F_0 组成。这两部分都是由多亚基组成。其中，膜中部分的带动柄转动的转子（图中红色部分）是由环形的 10～16 个亚基组成的。定子（图中绿色的部分）由跨膜的一个亚基通过伸长的柄与其他亚基相连。就是这个长臂将头部的环形的 3α 和 3β 亚基固定组成定子。（B）F_1 ATP 酶的 X 射线衍射三维晶体结构图。ATP 合酶的这一部分从跨膜的那一部分解离下来时既可以进行 ATP 的合成，又可水解 ATP［（B）摘自 John Walker，from J. P. Abrahams et al.，*Nature* 370：621～628，1994. © Macmillan Magazines Ltd.］

质子梯度驱动跨膜转运的机制

电化学质子梯度不止用来驱动 ATP 的合成。在线粒体中，许多带电的小分子如丙酮酸、ADP 和 Pi 是从线粒体基质进入细胞溶胶，而 ATP 从细胞溶胶到线粒体基质的转运都靠这种梯度驱动。运载蛋白在转运这些小分子进入线粒体基质的同时伴随着 H^+ 按能量有利的方向

移动。例如，丙酮酸和无机磷酸偶联 H^+ 一起转入线粒体基质中。

相反，ADP 和 ATP 由同一个运载蛋白向相反的方向转运。由于 ATP 比 ADP 多一个负电荷，这种协同转运可以导致线粒体膜的两边产生电压差（图 14-16）。

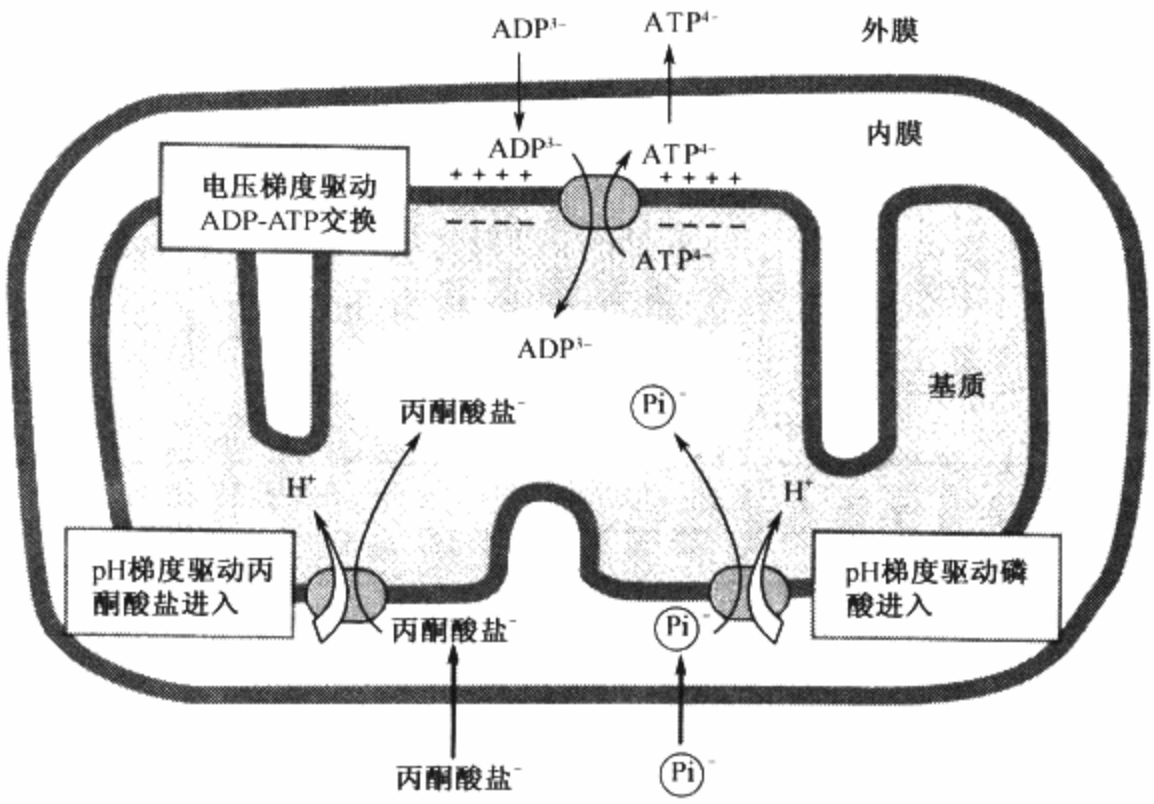


图 14-16　跨线粒体内膜的电化学质子梯度驱动的部分主动转运过程

丙酮酸、无机磷酸（Pi）和 ADP 转运到线粒体基质，ATP 则相反，从基质中泵出。被转运的分子的电荷在图上已经标出，可以看出膜内是负电。外膜对这三种物质是完全通透的。第 11 章已经讨论了运载蛋白对分子跨膜主动运输的过程

在真核生物细胞中，质子梯度是跨线粒体内膜的，可用来合成 ATP 以及某些代谢中间物的转运。在细菌中，质子梯度是跨质膜的，功能与真核生物相同。在可以运动的细菌中，质子梯度还可以驱动细菌鞭毛的快速转动使细菌移动（图 14-17）。

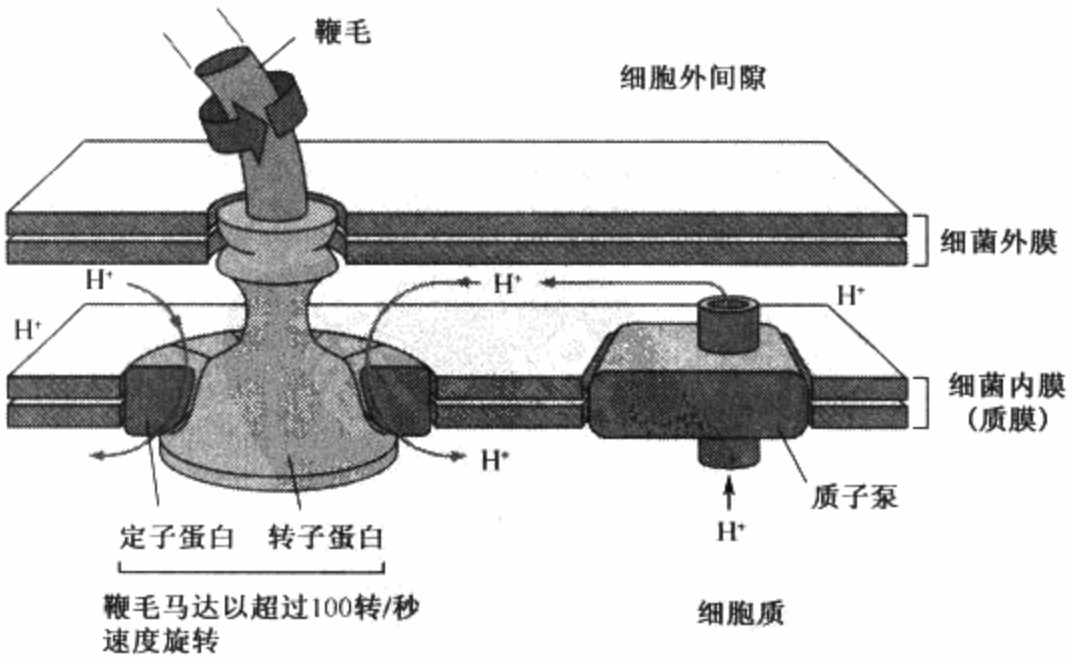


图 14-17　H^+ 流动驱动的细菌鞭毛转动过程

鞭毛与镶嵌在外膜和内膜上的环形蛋白连接，在转动时，这些蛋白质与鞭毛同时旋转。当质子流通过外面一圈蛋白质（定子）时，鞭毛开始转动。转动的原理可能与 ATP 合酶相似，但具体基质还不清楚

质子梯度是细胞中 ATP 的主要来源

如前所述，1 分子葡萄糖经过厌氧的糖酵解过程只产生 2 分子的 ATP。在氧化磷酸化过程中，线粒体来源的 NADH 每给出 1 对电子可产生 2.5 个 ATP，而 $FADH_2$ 仅产生 1.5 个 ATP。细胞溶胶中糖酵解来源的 NADH 也产生 1.5 个 ATP。表 14-1(A) 列出了糖酵解和三羧酸循环的所有产物，由此可以计算出 1 分子葡萄糖从糖酵解开始到三羧酸循环为止净产生 30 分子 ATP。

总之，动物细胞氧化葡萄糖产生的大量的 ATP 是通过线粒体膜上的化学渗透机制产生的。脂肪来源的 NADH 和 $FADH_2$ 经氧化磷酸化也产生大量的 ATP［表 14-1(B) 和图 2-78］。

表 14-1　糖和脂肪氧化的产物

A. 1 分子葡萄糖氧化的净产物	B. 1 分子软酯酰辅酶 A 氧化的净产物（软脂酸的活化形式）
在胞质中(糖酵解) 1 葡萄糖→2 丙酮酸＋2 NADH ＋2ATP 在线粒体中(丙酮酸脱氢酶和柠檬酸循环) 2 丙酮酸→2 乙酰辅酶 A＋2 NADH 2 乙酰辅酶 A→6 NADH＋2 $FADH_2$＋2 GTP 线粒体中的净反应 2 丙酮酸→8 NADH＋2 $FADH_2$＋2 GTP	在线粒体中(脂肪酸氧化和柠檬酸循环) 1 分子软酯酰辅酶 A8→ 乙酰辅酶 A＋7 NADH＋7 $FADH_2$ 8 乙酰辅酶 A→24 NADH＋ 8 $FADH_2$ 线粒体中的净反应 1 分子软酯酰辅酶 A8→31 NADH＋ 15 $FADH_2$

细胞线粒体中 ATP∶ADP 比值很高

通过线粒体内膜上 ADP-ATP 运载蛋白的作用，胞浆中 ATP 水解产生的 ADP 快速进入线粒体中，以弥补氧化磷酸化对基质中 ADP 的消耗，生成的 ATP 又被快速地泵入需能的胞浆中。每分钟这种转运不止一次维持细胞中 ATP 的浓度是 ADP 的 10 倍。

在第 2 章曾讨论过，合酶需偶联水解 ATP 提供能量来催化耗能反应的进行。细胞中的 ATP 库就像由电驱动的机器中的电池一样为整个细胞的活动提供能量。若线粒体的活动停止，ATP 的产量下降，细胞中所有需要能量驱动的反应将无法进行。最后，细胞死亡。有毒的氰化物就是通过阻断电子在线粒体内膜的传递而导致细胞死亡的。

细胞活动的终止不仅是在 ATP 浓度达到零的时候。生命活动无时无刻不需要大量的能量，只有在 ATP 的浓度与 ADP 和 Pi 浓度的比值较高时，细胞活动才能正常进行。为了解释原因，我们首先需要知道一些基本的热力学原理。

ATP 在细胞中具有举足轻重的作用

第 2 章中已经介绍了自由能（G）的概念。自由能的变化（ΔG）决定了细胞中这一反应是否能够进行。ΔG 可以被写成两部分的和：一部分是由参加反应的分子的本质决定的标准自由能的变化（ΔG°）；另一部分是参加反应的物质的浓度。以一个简单反应 A→B 为例：

$$\Delta G = \Delta G + RT \ln \frac{[B]}{[A]}$$

式中，［A］和［B］代表 A 和 B 的浓度；ln 是取自然对数；ΔG°为一个标准值等于 A 和 B 的

浓度均为 1 时的 ΔG 的值（ln1＝0）。

在第 2 章中 ATP 被称为是细胞中的“活化的能量载体”，其水解所释放出的巨大能量可以偶联其他自身不能进行的化学反应的发生。ATP 水解的两个产物分别是 ADP 和 Pi；因此反应过程可写成 A→B＋C（图 14-18），

$$\Delta G=\Delta G+RT\ \ln\frac{[B]\ [C]}{[A]}$$

这个反应在细胞中进行时，自由能的变化值可达到－11～－13kcal/mol。这样一个 ΔG 值与细胞中 ATP 的浓度大大高于 ADP 和 Pi 的浓度有关。当 ATP、ADP 和 Pi 浓度均为 1mol/L 时，ΔG 转变成 ΔG°，它的值只有－7.3 kcal/mol。当 ATP 的浓度远远低于 ADP 和 Pi 的浓度时，ΔG 变为零。在这一点，ADP 和 Pi 生成 ATP 的速率与 ATP 水解的速率相等，换句话说，$\Delta G=0$，这一状态被称为平衡态（图 14-18）。

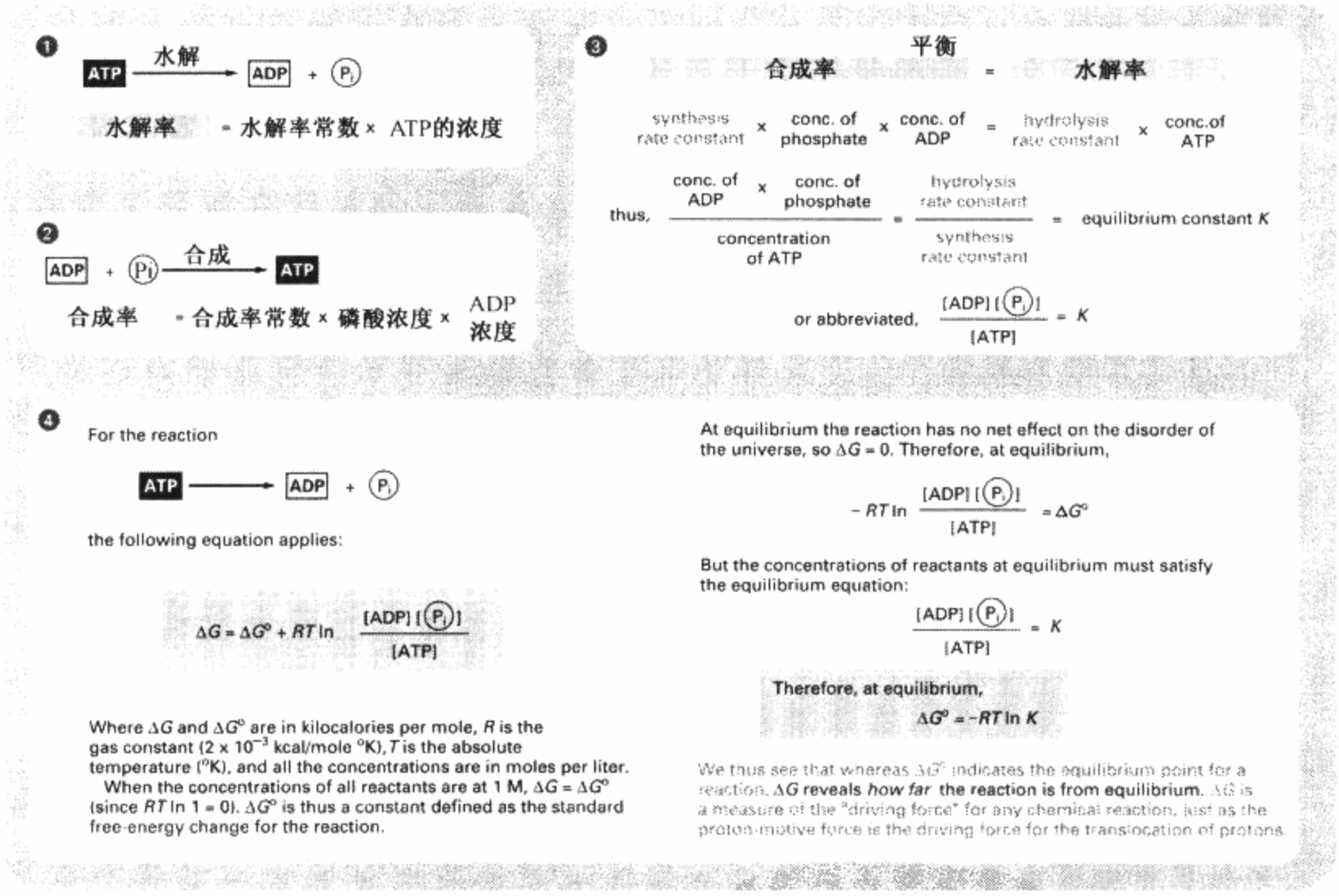


图 14-18　自由能变化与 ATP 水解反应平衡之间的关系示意图

框 1 和框 2 所示的反应速率常数是通过将产物量作为时间的函数计算出来的。图中平衡常数 K 的单位是 mol/L

（可参照表 2-7 关于自由能的介绍和对平衡常数的介绍）

ΔG 的值显示了反应是否达到平衡、是否可用于推动其他反应的进行。由于在线粒体中，ATP 高效的合成 ADP 使 ATP 的浓度远高于 ADP 和 Pi。因此，细胞中 ATP 的水解反应远没有达到平衡，ΔG 变成一个很大的负值。如果没有这种不平衡，ATP 的水解的能量就不能用于推动细胞中反应的进行。例如，在很低的 ATP 浓度下，许多生物合成反应就会向逆反应发生，而不是正反应。

ATP 合酶还具有水解 ATP 和质子泵的功能

ATP 合酶不仅可以用来利用电化学质子梯度合成 ATP，还能催化其逆反应的进行，即利用水解 ATP 的能量将质子泵入线粒体内膜（图 14-19）。它的这种可逆偶联功能可以互变电化学质子梯度和化学键能。任何时候反应的方向都取决于电化学质子梯度的大小和当时 ATP 水解的 ΔG 值。

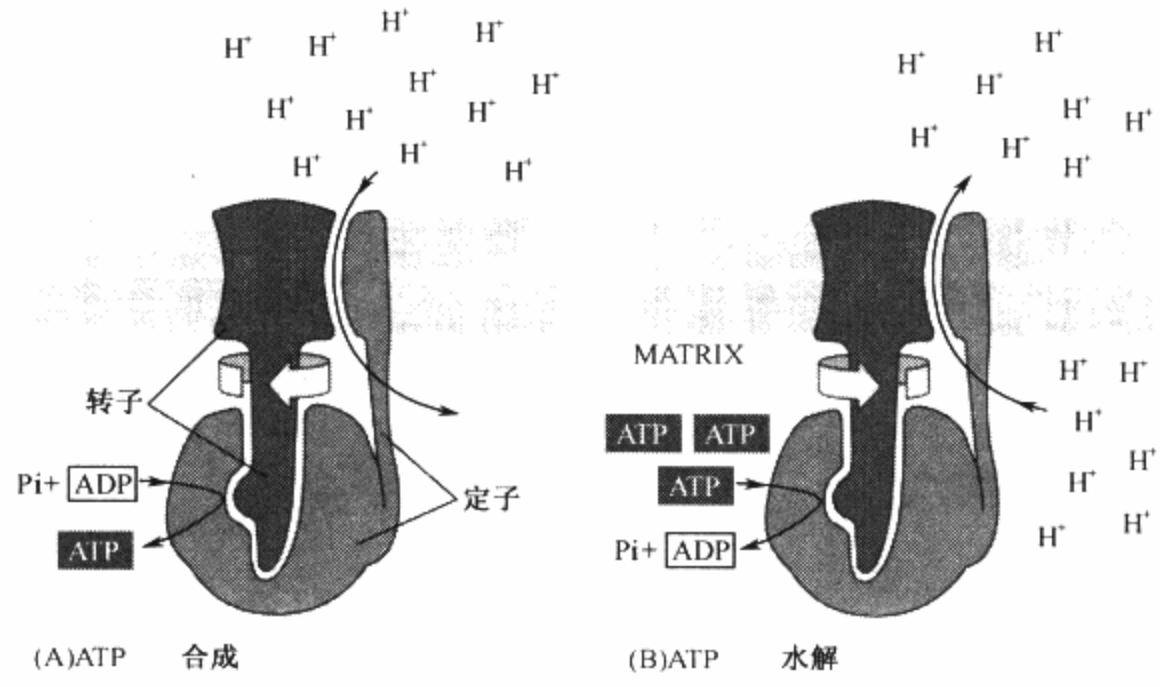


图 14-19 ATP 合酶是可逆反应偶联装置，能将电化学质子梯度所具有的能量转化成化学键能，反之亦然

ATP 合酶既可以利用质子动势合成 ATP（见 A）又可以水解 ATP 将质子逆电化学质子梯度转运。任何时候反应进行的方向由 ADP 与 Pi 合成 ATP 偶联 H^+ 跨膜转运的净自由能变化量（ΔG）决定。ATP 合酶水解 ATP 时转运质子的力量是同样重量的柴油发动机的 60 倍。文中已经说过水解 ATP 的自由能变化量（ΔG）由 ATP、ADP 和 Pi 三者的浓度所决定(图 14-18)；ATP 合成的 ΔG 是其负值。质子跨膜的 ΔG 与质子动势呈正比。它们之间的转化因子是法拉第常数。因此，$\Delta G_{H^+} = -0.023 *$（质子动势），其中，$\Delta G_{H^+}$ 的单位是 kcal/mol 而质子动势的单位是 mV。当质子动势为 200mV 时，ΔG_{H^+} 为 −4.6 kcal/mol

虽然不能确切地知道产生 1 个 ATP 分子需要几个质子推动，我们可假设是 3 个质子推动 ATP 合酶合成 1 个 ATP。ATP 合酶在某一时刻是在合成 ATP 还是在水解 ATP 取决于 3 个质子穿膜进入基质的 ΔG_{3H^+}（值小于零）和基质内合成 ATP 的 $\Delta G_{ATP合成}$（值大于零）之间的平衡。而 $\Delta G_{ATP合成}$ 的值由 ATP、ADP 和 Pi 在线粒体中的浓度所决定（图 14-18）。ΔG_{3H^+} 的值相反直接与跨膜的质子动势呈正比。下面的例子解释了这两种自由能变化的平衡是如何影响 ATP 合酶的。

正如图 14-19 所示，单个 H^+ 顺 200mV 的电化学梯度进入基质释放出 4.6kcal/mol 的自由能，而移动 3 个质子释放的自由能是其 3 倍（$\Delta G_{3H^+} = -13.8$kcal/mol）。如果质子动势维持在 200mV，ATP 合酶就持续合成 ATP 直到 ATP 与 ADP 和 Pi 的比率降低到 $\Delta G_{ATP合成} = +13.8$ kcal/mol（$\Delta G_{ATP合成} + \Delta G_{3H^+} = 0$），在这一点，ATP 合酶既不生成 ATP 也不水解 ATP。

假如胞浆中突然有大量的 ATP 水解来满足需能反应的要求，导致基质中 ATP 和 ADP 的比值降低，$\Delta G_{ATP合成}$ 的值随之降低（图 14-18），ATP 合酶又开始合成 ATP 来恢复原来的 ATP 和 ADP 的比值。相反，若质子动势突然降低然后恒定在 160mV，G_{3H^+} 变为 −11.0kcal/mol。基质中的 ATP 水解，直至 ATP、ADP 和 Pi 到达新的平衡（$\Delta G_{ATP合成} =$

+11.0 kcal/mol)，如此循环下去。

在许多细菌中，ATP 合酶的可逆转变在需氧和厌氧代谢的转变过程中有规律的变化，我们将在稍后说明。其他一些偶联离子跨膜运动与 ATP 合成水解的跨膜转运蛋白也具有这种可逆的变化。例如，第 11 章所讲的 Na^+-K^+ 泵和 Ca^{2+} 泵就是利用 ATP 水解释放的能量驱动特定的离子的跨膜运动，但如果泵两边的离子梯度不利于离子的转运，该泵就改变方向由 ADP 和 Pi 合成 ATP。因此，ATP 不是唯一能把以跨膜离子梯度形式储存的电化学梯度转化成 ATP 的磷酸键能的蛋白质。

小结

动物细胞中大部分 ATP 的产生以及氧化反应发生在线粒体中。线粒体基质中含有各种各样的酶，包括丙酮酸和脂肪酸转变成乙酰 CoA，乙酰 CoA 再转变成 CO_2（三羧酸循环）过程中所有的酶。这些氧化反应产生了大量的 NADH（和 $FADH_2$）。

NADH 和 $FADH_2$ 中的能量在电子传递链中释放出来，用于 O_2 和活性电子的结合，这一反应链称为呼吸链。呼吸链造成跨膜的电化学梯度，这一梯度由膜压和膜两边的 pH 差共同贡献。利用 H^+ 回流入基质（跨线粒体内膜）释放出的大量能量，ATP 合酶合成了 ATP。电化学梯度还可以驱动一些代谢中间物的跨线粒体内膜转运，包括 ATP-ADP 在胞质和线粒体中的互相转化，维持细胞 ATP 库中 ATP 的高含量，有利于 ATP 的水解，释放出的能量用来驱动细胞中需能反应地进行。

电子传递链及其质子泵

在大体了解了电子传递产生电化学梯度的过程之后，我们阐述了依赖膜的能量转换过程的机制。在之前的章节中，我们曾经强调过，线粒体、叶绿体、古细菌和细菌中具有相似的化学渗透机制。事实上，该机制存在于几乎所有的生命形式中，包括那种所有能量来自于两种无机物之间的电子传递的厌氧物生物。而科学家们提出渗透理论的历史还不到 40 年。

下面我们将了解电子传递的原理来解释质子是如何跨膜转运的。

容易移动的质子

虽然 H^+ 的跨膜移动与 Na^+ 和 K^+ 类似，但在某些方面是不同的。氢原子是生命体中目前为止含量最丰富的原子之一。它不仅在含碳的生物大分子中很丰富，在水分子中也大量存在。质子在水中以高速运动，通过氢键快速从一个水分子脱离然后结合到附近的另一个水分子上，如图 14-20(A) 所示。质子被认为以相同的方式穿过镶嵌在脂双层上的蛋白质泵，该泵上有一个特殊的通道。

质子在电子的传递过程中也有特殊的作用。当一个分子结合一个电子被还原的同时，带上了一个负电荷。在大多时候这个电子很快被水中的质子中和。因此，该还原反应的最终结果是传递了一个氢原子，$H^+ + e^-$ [图 14-20(B)]。当一个分子被氧化时，从该分子上脱离下的一个氢原子很快就分解成一个电子和一个质子，这个电子单独传递到接受它的分子中，而质子与水分子结合。从上面可以看出，膜上电子沿着电子传递链传递的同时，质子从膜的一边被泵到另一边就很容易解释了。膜上的电子载体只需按照在电子传递过程中，从膜一边接受质子，而从另一边释放质子的方式排列在膜上（图 14-21）。

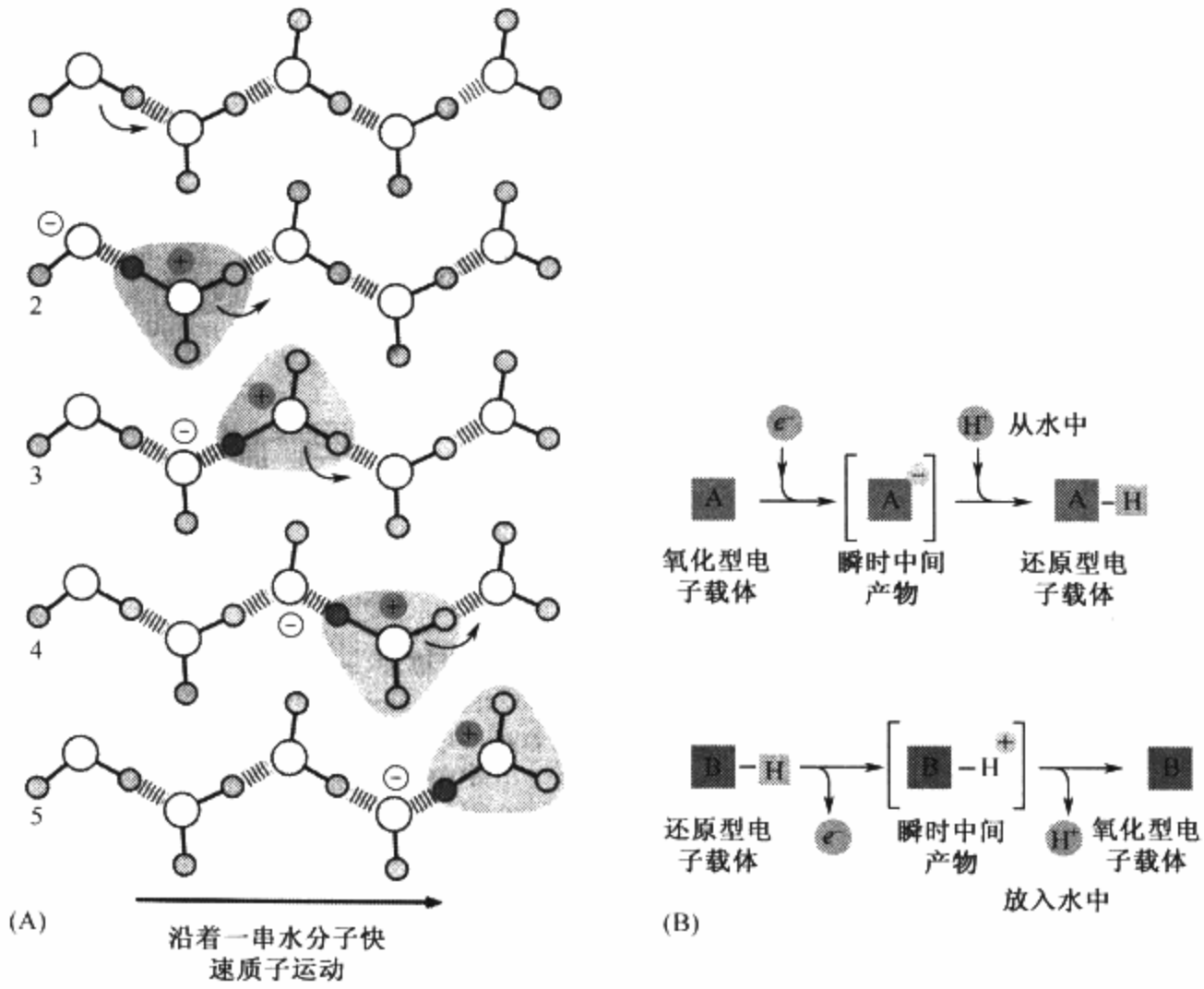


图 14-20　质子在水中参与反应的过程

（A）质子在能形成氢键的水分子间快速传递。图中，质子的传递过程用蓝色箭头表示，水合氢离子以绿色箭头表示。在第 2 章已经介绍过，裸露的质子一般不存在，而是与水结合生成水合氢离子 H_3O^+。在中性条件下，它在水中的浓度为 10^{-7} mol/L。但是，现在一般简写成 H^+ 的浓度为 10^{-7}mol/L（表 2-2）。（B）电子传递的最终结果是整个氢原子的传递。因为，细胞中质子随时准备接纳电子或者与水分子结合。图中所示，A 还原的同时接受一个电子和一个质子，B 氧化的同时失去了一个电子和一个质子

氧化还原电势决定对电子吸引力的大小

在生化反应中，电子的传递伴随着分子的氧化或者还原。像其他化学反应一样，氧化还原反应的自发进行由电子传递的自由能决定（ΔG），而电子传递又由结合电子的两个分子对电子的亲和力的大小所决定。

由于电子传递过程提供了生命活动所需的大部分能量，我们就值得花时间去了解它。许多读者已经熟悉了可提供质子的酸和可接受质子的碱（图 2-2）。酸和碱存在于共轭酸碱对中，其中的酸随时准备通过失去一个质子转化成碱。例如，乙酸（CH_3COOH）转变成其共轭碱（CH_3COO^-）的反应：

$$CH_3COOH \rightleftharpoons CH_3COO^- + H^+$$

NADH 和 NAD^+ 这一**氧化还原**对于上一例子相同，NADH 在反应中失去电子转化成 NAD^+，

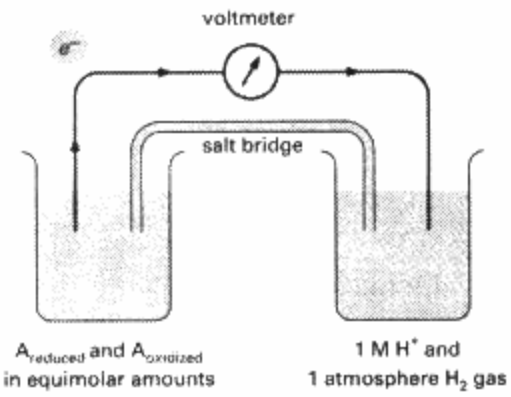
$$NADH \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2e^-$$

NADH 是强的电子供体，它的电子存在于高能键中，其中包含的自由能有利于电子在很多分子中传递（图 14-9）。而 NAD^+ 是一个弱的电子受体，因为高能键相对很难生成。

氧化还原电子对的传递电子的电势大小可由试验测得。只需设计一个电路，将待测氧化还原电对与另一作为标准的电对按 1∶1 等摩尔混合，就可以测定二者之间的电压（专题 14-1）。

专题 14-1　氧化还原电位

HOW REDOX POTENTIALS ARE MEASURED



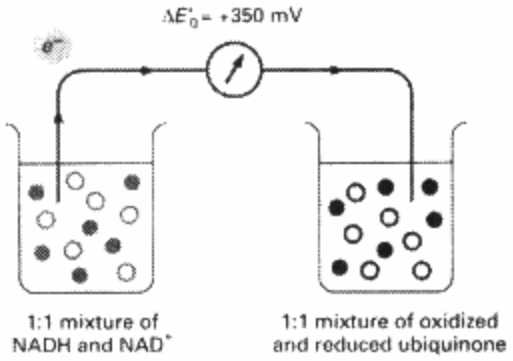
One beaker (*left*) contains substance A, with an equimolar mixture of the reduced ($A_{reduced}$) and oxidized ($A_{oxidized}$) members of its redox pair. The other beaker contains the hydrogen reference standard ($2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$), whose redox potential is arbitrarily assigned as zero by international agreement. (A salt bridge formed from a concentrated KCl solution allows the ions K^+ and Cl^- to move between the two beakers, as required to neutralize the charges in each beaker when electrons flow between them.) The metal wire (*red*) provides a resistance-free path for electrons, and a voltmeter then measures the redox potential of substance A. If electrons flow from $A_{reduced}$ to H^+, as indicated here, the redox pair formed by substance A is said to have a negative redox potential. If they instead flow from H_2 to $A_{oxidized}$, the redox pair is said to have a positive redox potential.

SOME STANDARD REDOX POTENTIALS AT pH7

By convention, the redox potential for a redox pair is designated *E*. For the standard state, with all reactants at a concentration of 1 M, including H^+, one can determine a standard redox potential, designated E_0. Since biological reactions occur at pH 7, biologists use a different standard state in which $A_{reduced} = A_{oxidized}$ and $H^+ = 10^{-7}$ M. This standard redox potential is designated E'_0. A few examples of special relevance to oxidative phosphorylation are given here.

redox reactions	redox potential E'_0
$NADH \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2e^-$	−320 mV
reduced ubiquinone $\rightleftharpoons$ oxidized ubiquinone $+ 2H^+ + 2e^-$	+30 mV
reduced cytochrome c $\rightleftharpoons$ oxidized cytochrome c $+ e^-$	+230 mV
$H_2O \rightleftharpoons \frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^-$	+820 mV

CALCULATION OF ΔG° FROM REDOX POTENTIALS



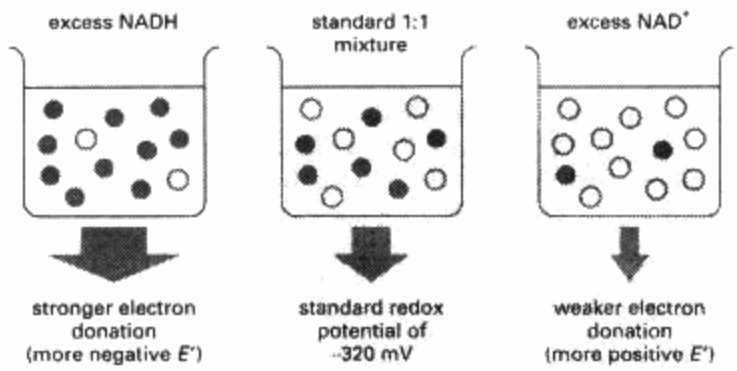
$\Delta G^\circ = -8$ kcal/mole

$\Delta G^\circ = -n(0.023)\,\Delta E'_0$, where *n* is the number of electrons transferred across a redox potential change of $\Delta E'_0$ millivolts (mV)

Example: The transfer of one electron from NADH to ubiquinone has a favorable ΔG° of −8.0 kcal/mole, whereas the transfer of one electron from ubiquinone to oxygen has an even more favorable ΔG° of −18.2 kcal/mole. The ΔG° value for the transfer of one electron from NADH to oxygen is the sum of these two values, −26.2 kcal/mole.

THE EFFECT OF CONCENTRATION CHANGES

The actual free-energy change for a reaction, ΔG, depends on the concentration of the reactants and generally is different from the standard free-energy change, ΔG°. The standard redox potentials are for a 1:1 mixture of the redox pair. For example, the standard redox potential of −320 mV is for a 1:1 mixture of NADH and NAD^+. But when there is an excess of NADH over NAD^+, electron transfer from NADH to an electron acceptor becomes more favorable. This is reflected by a more negative redox potential and a more negative ΔG for electron transfer.



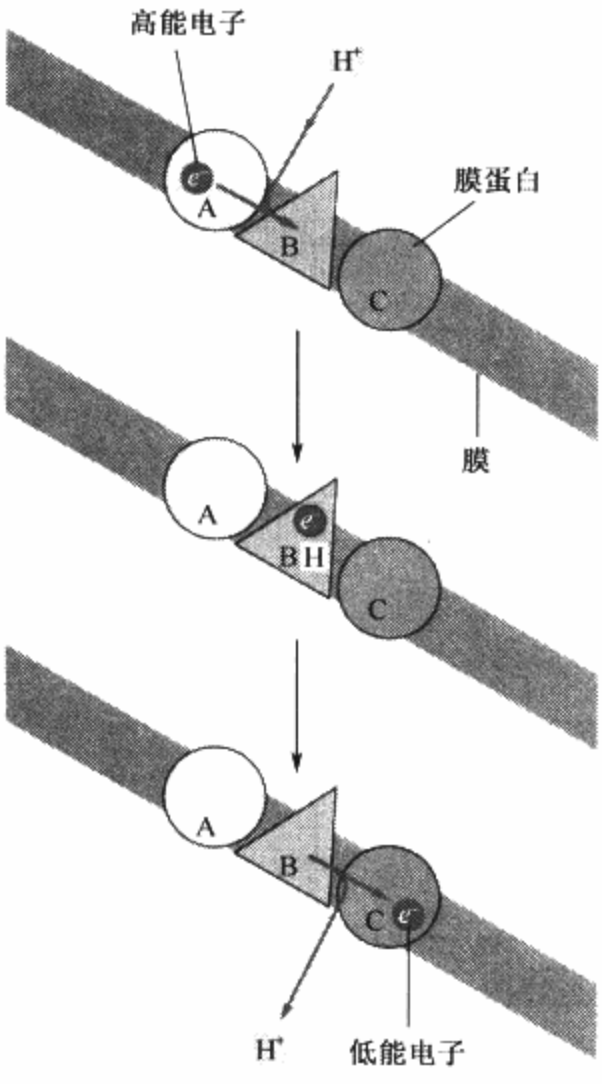


图 14-21　质子跨膜转运示意图

当一个电子沿脂双层膜上的电子传递链传递时，能够结合和释放一个质子。如图所示，电子载体 B 从膜的一边接受一个质子（H^+）的同时也从载体 A 吸收了一个电子（e^-）；然后将电子供给载体 C 并从膜的另一边释放质子

这个电压被称为**氧化还原电势**，电子从低氧化还原电势的电子对（与电子结合力弱）（如 $NADH/NAD^+$）自发地传递到高氧化还原电势（与电子结合力强）的电子对（如 O_2/H_2O）。所以，NADH 在呼吸链中就成为很好的电子提供者，而 O_2 就成为链末端一个很好的电子接收器。图 14-1 告诉我们，氧化还原电势 $\Delta E'_0$ 在电子的传递过程中是标准自由能（ΔG°）的很好的替代者。

电子传递释放大量的能量

在氧化还原反应中，氧化还原电势的值越负的一对化合物，与电子的结合力越弱，越容易失去电子。相反，氧化还原电势越高的一对化合物，与电子结合力强，越容易接受电子。NADH 和 NAD^+ 以 1∶1 混合的氧化还原电势为 −320mV，H_2O 和 $1/2O_2$ 以相同的比例混合的氧化还原电势为 +820mV，说明在该反应中 NADH 给出的电子被 O_2 接受。NADH 每传递一个电子给 O_2 的 ΔG° 为 −26.2kcal/mol（每个 NADH 给出 2 个电子，ΔG° 为 −52.4kcal/mol；专题 14-1）。将这个自由能值与 ATP 的磷酸键能比较（$\Delta G^\circ = -7.3$kcal/mol；图 2-75），我们可以发现 NADH 氧化释放的能量足以用来合成几个分子的 ATP。

本来生命体可以进化出能直接利用 NADH 释放电子给 O_2 生成水的酶，

$$2H^+ + 2e^- + 1/2O_2 \longrightarrow H_2O$$

但由于该反应瞬间释放出的大量能量还没来得及使用就以热量的形式释放到环境中去了。所以，细胞采用了许多电子载体一步一步将 NADH 释放的电子传递给 O_2 的方式来进行这个反应。电子载体与电子的结合力越来越强，使得该反应接近一半的能量被储存起来而不是以热量的形式释放到环境中。

呼吸链中的许多电子载体可用分光光度的方法来识别

呼吸链中的许多电子载体可吸收可见光，氧化或还原的时候能够改变颜色。每个载体都有各自不同的吸收光谱，可用分光镜进行简单的区分。这样，尽管不知道它们的确切功能之前，我们还是能得到纯化的载体。1925 年发现了**细胞色素**，它可快速地进行氧化还原反应，与细菌、酵母和昆虫完全不同。用分光镜观察细胞或组织，将可识别三种细胞色素具有三种不同的吸收光谱。这三种被称为细胞色素 a、b 和 c。这样的命名一直延续下来，现在我们知道细胞中包含几种类型的细胞色素。

细胞色素是有色蛋白的组成部分，如血红素，当它接受一个电子能从 Fe^{3+} 转化成 Fe^{2+}，血红素包含一个紧密结合铁原子的卟啉环，铁原子位于卟啉环上 4 个氮原子组成的正方形上（图 14-22）。血色素中与铁结合的卟啉环以及叶绿体中与镁结合的卟啉环是二者分别具有红色和绿色的原因。

铁硫蛋白是第 2 大电子载体家族。2 个或者 4 个铁原子与相同数目的半胱氨酸中的硫相结合，形成了铁硫中心（图 14-23）。在呼吸链的铁硫中心比细胞色素更多，但很难被观察到，需要特殊的电子自旋共振光镜（ESR），而且它们之间也很难被分开。与细胞色素相同，铁硫中心一次也只携带一个电子。

呼吸链中最简单的电子载体是疏水的分子称为泛醌，又称辅酶 Q。它不含有蛋白质，能在脂双层中自由移动。该醌一次可以接受或提供 1 个或者 2 个电子；在还原反应中，它可以从中间体接受 1 个质子以及它所携带的电子（图 14-24）。

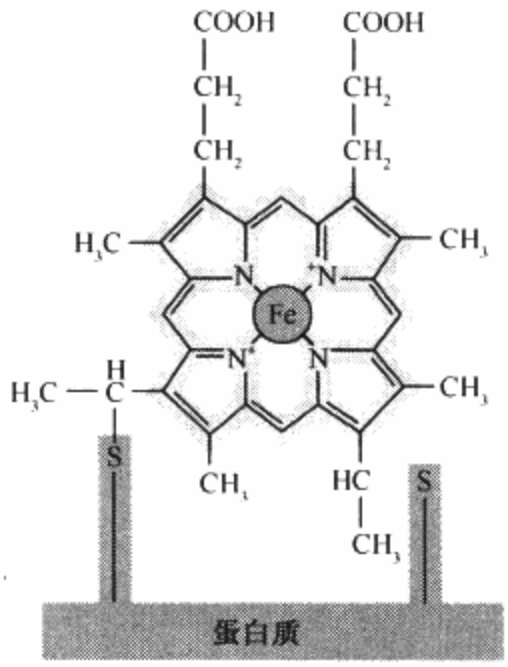


图 14-22　与细胞色素 c 共价结合的血红素基团的结构示意图

卟啉环用蓝色表示。呼吸链中共有 5 种不同的细胞色素。其中的血红素结构大同小异，但与各自蛋白质的结合方式却各不相同。每个细胞色素与电子的亲和力也不相同

在 NADH 到 O_2 的电子传递过程中，除了与 6 个细胞色素相连的不同的血红素外，还有泛醌、多于 7 个的铁硫中心、2 个铜以及 1 个黄素分别与呼吸链上的电子载体紧密相连。这条链上一共有 60 多个不同的蛋白质。

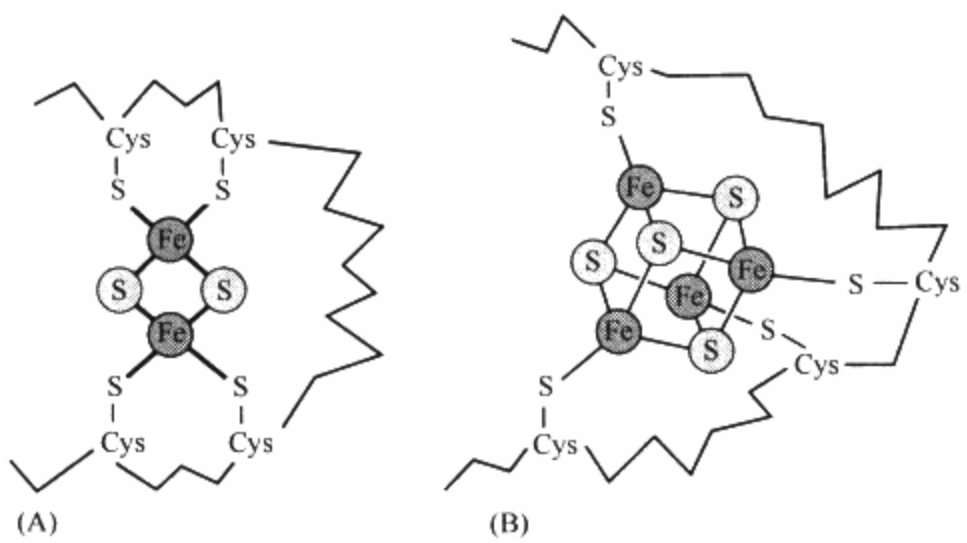


图 14-23　铁硫中心的结构示意图

（A）2Fe2S 型的中心。（B）4Fe4S 型的中心。尽管每个类型的中心都含有很多铁原子，但每次只能传递一个电子。呼吸链中有不止 7 个铁硫中心

在呼吸链上，随着电子的传递，电子载体与电子的结合力越来越强（氧化还原电势越来越高）。我们可以推测，电子载体通过相互之间的作用逐渐演化出了非常合适的氧化还原电势。由于铁硫中心对电子的亲和力较弱，所以它们在呼吸链的开始部分占优势，而细胞色素具有较高的电子亲和力，在链的以后阶段占优势。

单个的电子载体的排列顺序能够被高分辨率的光镜检测出来（图 14-25）。最初分离出的蛋白质都按单个多肽去分析，但后来意识到，呼吸链上的蛋白质可归为三大酶复合体，这样更有利于理解呼吸链上的反应过程。

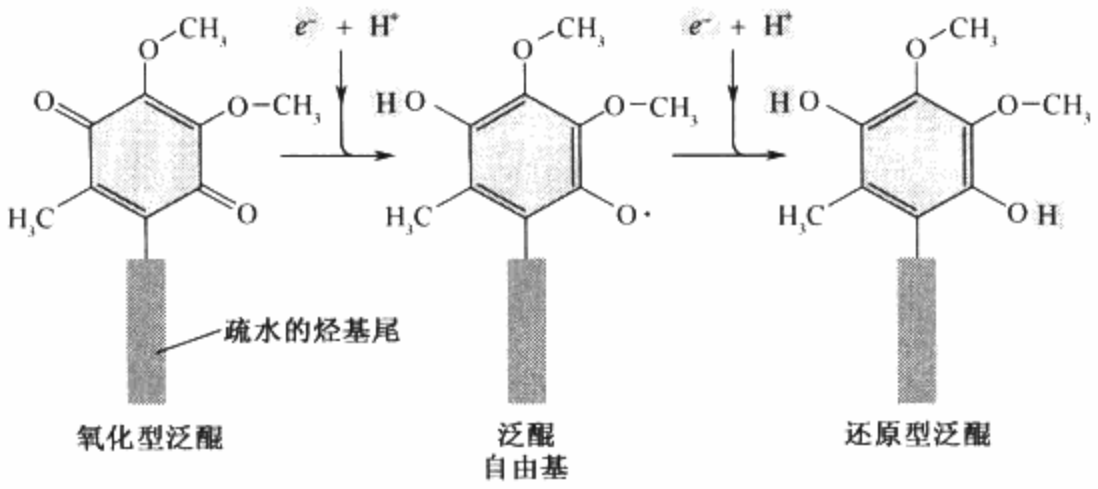


图 14-24　泛醌的电子传递

泛醌在呼吸链中每接受一个电子的同时从亲水环境中吸收一个质子，其可传递来自氢原子（黄色部分所示）的 1 个或 2 个电子。当被还原的泛醌将电子传递给下一个载体时，将质子释放。泛醌含 6～10 个异戊二烯单位的疏水性的尾巴将它限制在膜上，异戊二烯基团的数目由生物个体所决定。叶绿体光合作用膜上相应的电子载体是质体醌。为了简化起见，本章中将泛醌和质体醌统称为醌（简写成 Q）

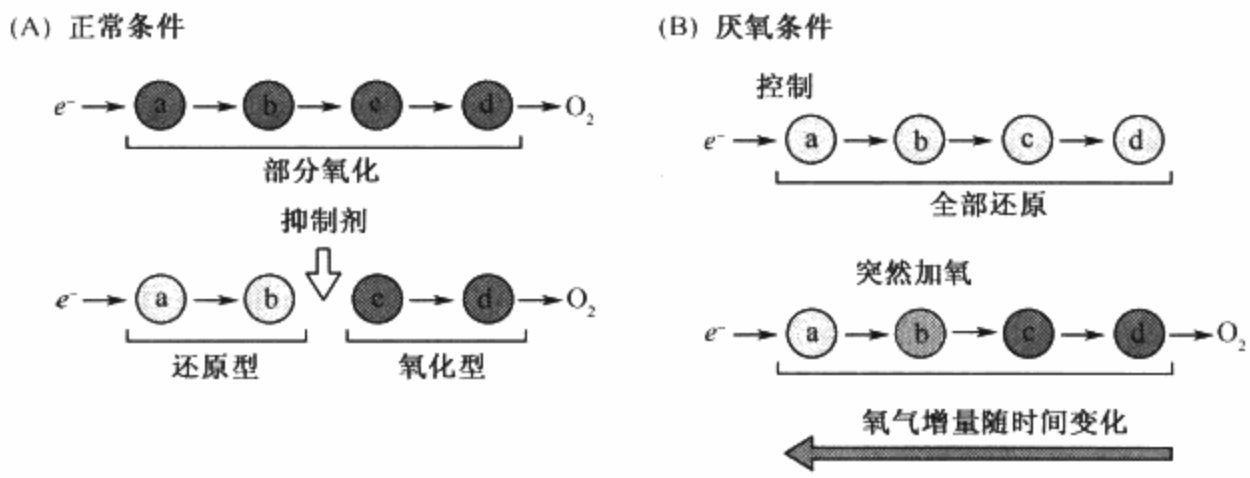


图 14-25　电子传递链中电子传递方式示意图

电子载体 a、b、c 和 d 的氧化过程以它们的光谱变化来追踪。因为这些载体在氧化和还原时的光谱不同。图中，红色逐渐变深的方向表示氧化程度的进一步加深。(A) 正常条件下，氧气是充足的，所有的载体只被部分的氧化。当反应中间加入抑制剂，则下游的载体氧化程度加深（图中红色部分），而上游的载体则还原程度加强。(B) 没有氧气的条件下，所有的载体成完全还原状态（灰色部分）。当突然加入氧气时，载体呈逐渐加强的部分氧化趋势

线粒体内膜上镶嵌有呼吸作用三大酶复合体

由于膜蛋白是疏水的，纯化很难，不容易得到完整的蛋白质，使用去污剂又会使蛋白质变性，破坏了蛋白质的天然结构。早在 1960 年，人们发现一些温和的离子去污剂（如脱氧胆酸）能够溶解吸纳立体内膜上的某些特定的蛋白质而使其结构不被破坏。呼吸链上的三个主要的与膜结合的**呼吸酶复合体**通过这种方法就可以提取纯化和鉴定（图 14-26）。这些复合体都可以看成由电子传递所驱动的质子泵。

1. **NADH 脱氢酶复合体**是呼吸链复合体中最大的一个，包含 40 多个多肽链。它接受从 NADH 而来的电子，沿黄素、至少 7 个铁硫中心到达泛醌。泛醌再将电子传到下一个复合体，细胞色素 b-c_1 复合体。

2. **细胞色素 b-c_1 复合体**包含 11 个不同的多肽链，以二聚体的形式发挥作用。每个单体含有 3 个结合有血红素的细胞色素和一个铁硫蛋白。这个复合体吸收从泛醌传来的电子，再

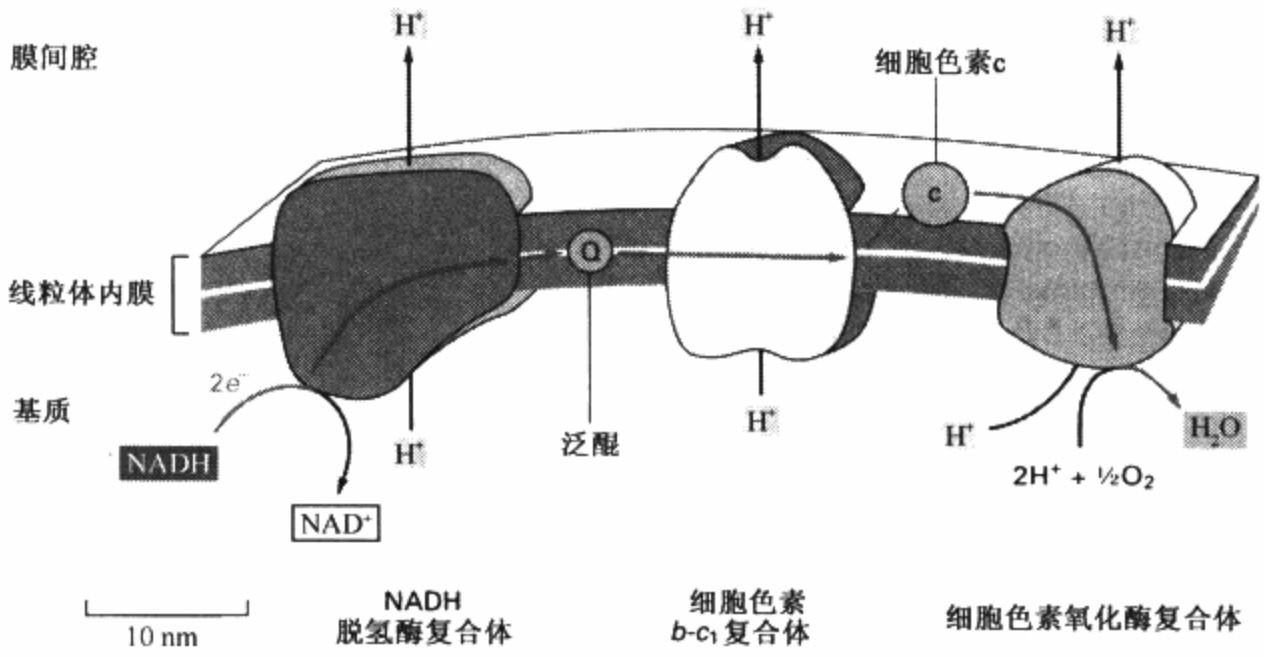


图 14-26　电子经三大呼吸作用酶复合体的传递途径

图中显示了每个酶复合体相对的大小和形状。在电子从 NADH 传到氧的过程中（图中红线所示），泛醌和细胞色素 c 起到在酶复合体之间的可移动的搬运工的角色。从图中还可以看出，呼吸作用酶复合体都能跨膜转运质子

将它传到细胞色素 c，细胞色素 c 将电子传到细胞色素氧化酶复合体。

3. **细胞色素氧化酶复合体**也是一个二聚体；单体由 13 个不同的肽链组成，包含 2 个细胞色素和 2 个铜原子。这个复合体每次从细胞色素 c 吸收 1 个电子，而每次传递 4 个电子给氧气。

细胞色素、铁硫中心和铜原子每次只能传 1 个电子。而 NADH 每次给出 2 个电子，氧气每次需吸收 4 个电子来产生水。在电子传递链中有几个电子聚集和电子分散点来调节电子的数目。其中最主要的是细胞色素氧化酶。

细胞色素氧化酶的铁铜中心高效催化氧气还原

因为氧气对电子的亲和力非常强，当它还原生成水时可释放出比厌氧代谢大得多的能量供有机体利用。这很可能就是所有的高等有机体都具有呼吸作用的原因。生物体利用氧的这种方式是通过精巧的化学反应来实现的。在细胞中，O_2 吸收一个电子变成超氧基团 O_2^- 的反应是整个反应的限速步骤。O_2^- 一旦形成对人体非常有害，它能够迅速地摄取附近的 3 个电子完成反应，把对人体的危害降到最低程度。细胞色素氧化酶与血红素结合的铁原子以及铜原子形成了双金属中心，这两个金属在酶的中央能够像钳子一样夹住氧气分子，直到它摄取了全部 4 个电子将 1 个氧气分子转变成 2 分子的水（图 14-27）。

细胞色素氧化酶对需氧生活的生物至关重要，因为它利用了细胞摄取的 90%的氧气。氰化物和叠氮化物能够紧密结合在细胞色素氧化酶复合体上，阻止电子的传递大大降低 ATP 的产量，因而二者对细胞是有毒的。

在哺乳动物中，细胞色素氧化酶由 13 个不同的蛋白质亚基组成，它们其中的大多数是用来调节酶的活性或者是帮助形成 3 个亚基组成的酶活性中心。最近，使用 X 射线晶体衍射技术我们得到了酶的完整结构，如图 14-28 所示。利用基因工程手段对酵母和细菌中的同种酶进行定点突变，对酶的结构进行了更加细致的研究。

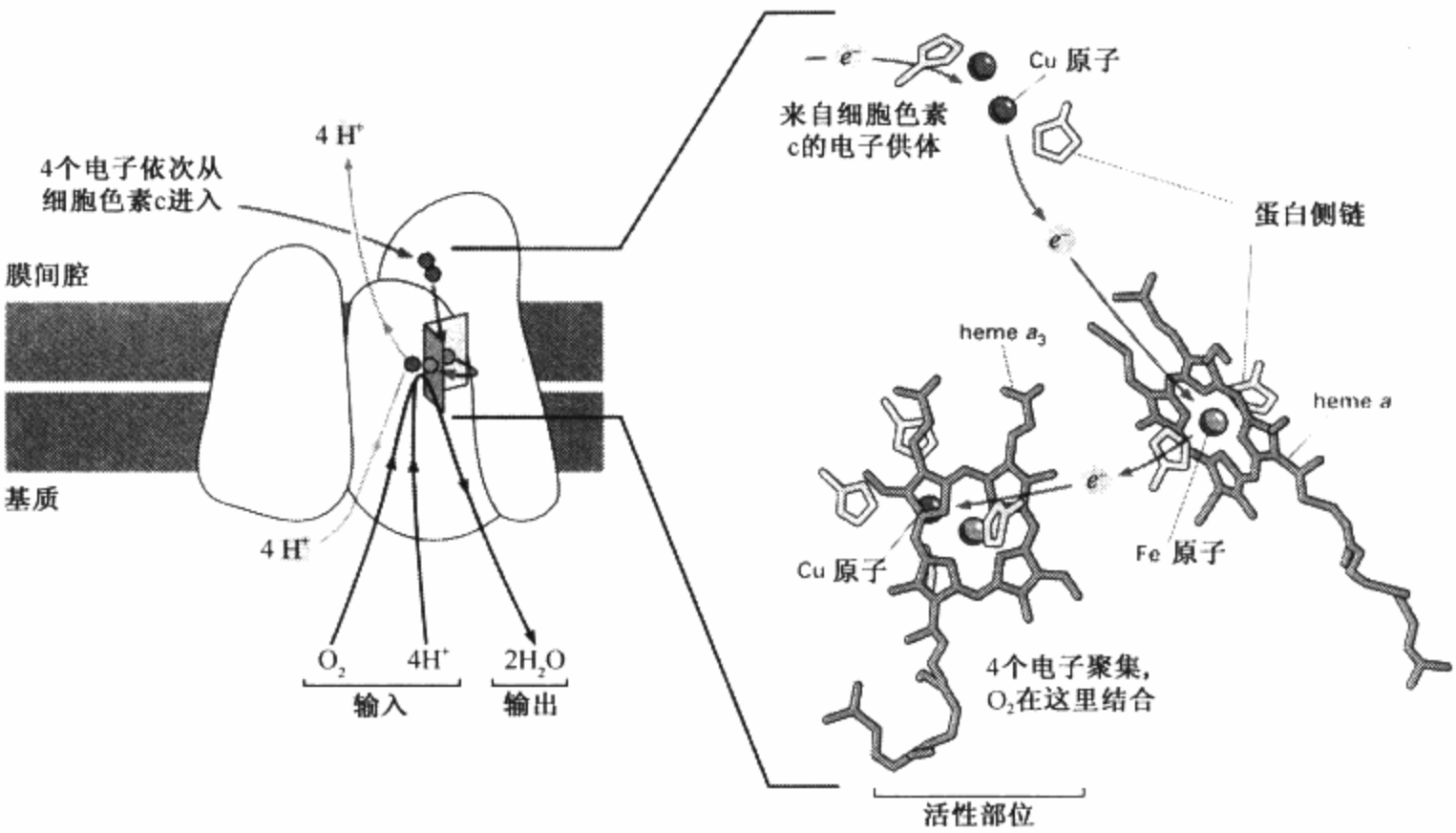


图 14-27　细胞色素氧化酶中电子与氧发生的反应

图中所示，血红素 a 中的铁原子相当于一个电子排队等候的地方。它能够将 4 个电子运到双金属中心活性部位的氧分子上。这个活性部位由其他与铁结合的血红素和位于背部的铜原子形成。每个 O_2 参与反应就有 4 个质子从基质中泵出。反应方程式是 $4e^- + 4H^+ + O_2 \rightarrow 2H_2O$

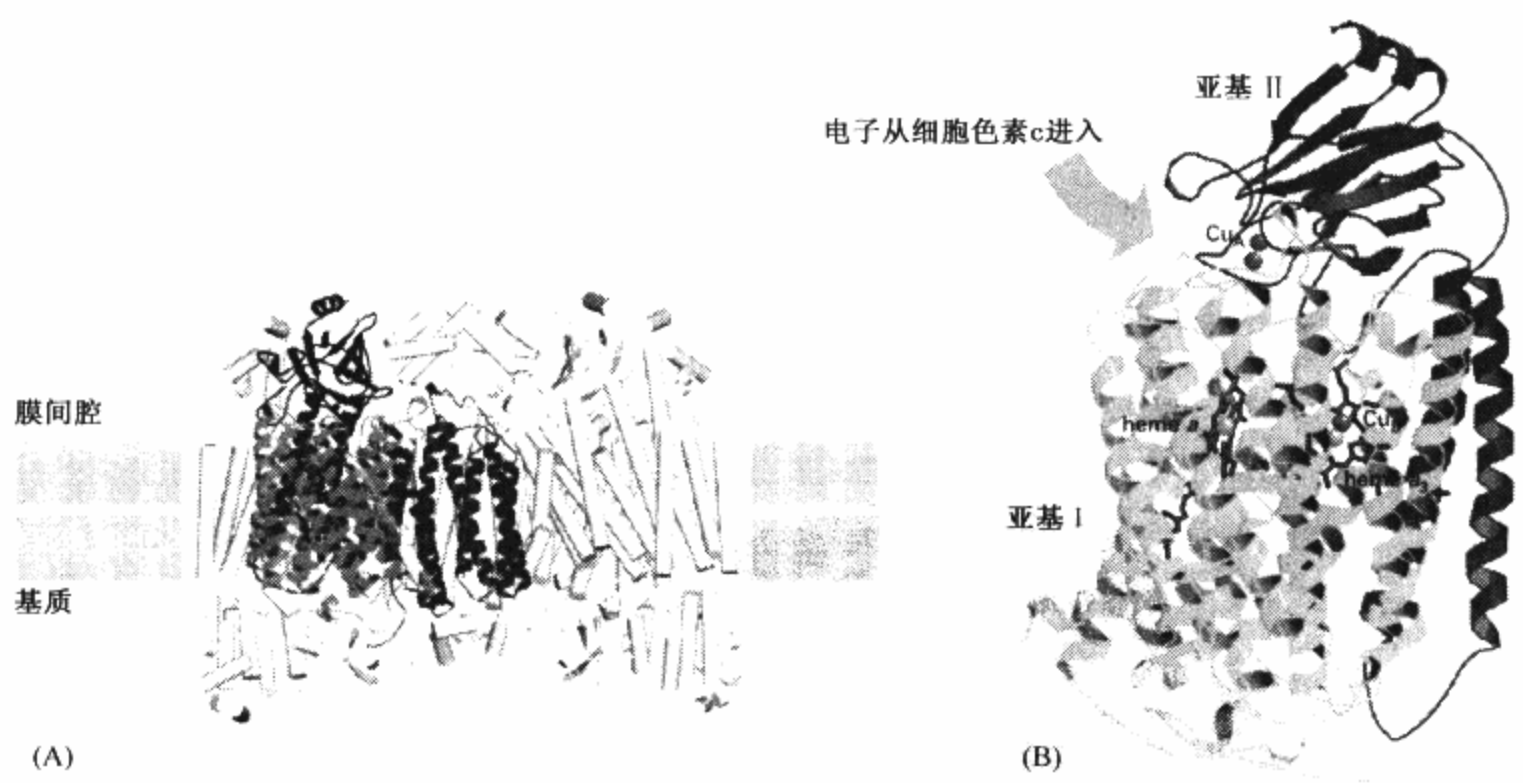


图 14-28　细胞色素氧化酶的分子结构

该酶是一个二聚体结构。每个单体由 13 个不同的亚基组成（分子质量大约为204 000Da）。图中 3 个有颜色的部分是由线粒体基因组所编码的，它们构成了酶的主要功能中心。该蛋白质参与了电子传递过程，并伴随着质子的转运（图 14-27）。

（A）位于线粒体内膜的整个蛋白质的结构示意图。（B）亚基Ⅰ和Ⅱ的结构示意图

线粒体内膜上电子传递通过随机碰撞调节

呼吸链中，在三种主要的酶复合体间传递电子的是泛醌和细胞色素 c，它们可在线粒体内膜上快速移动。这些可快速移动的载体与其他扩散很慢的复合体之间的随机碰撞速率决定了电子传递的速率（每个复合体每 5～20ms 给出或接受一个电子）。这样就没必要假定电子传递过程的蛋白质在脂双层上是有序的排列。而且三种不同的复合体在内膜上的功能是相互独立的，在不同的线粒体中它们之间的比例不同。

呼吸链上电子传递的顺序是由链中组分功能之间相互作用的特性所决定的。每个载体只能在与它邻近的载体之间传递，这种顺序见图 14-26，而没有其他更短的路径。

电子在分子之间的传递不仅是以形成共价键的方式进行，还可以跳过一个长达 2nm 的通道，该通道被称为“电子通道”，这种量子的特性对我们讨论的过程至关重要。为了防止电子通过一个比它高氧化还原电势的载体碰撞而使自己脱离原来的路径跑到其他的地方，它必须深藏在载体蛋白的内部与其他不相关的电子载体绝缘。

下面我们将讨论一下两个电子载体是怎样利用它们之间氧化还原电势的差异将 H^+ 泵出线粒体基质的。

呼吸作用三大酶复合体氧化还原电势的降低为 H^+ 泵出提供能量

前面我们已经讲过氧化还原电势与电子亲和力之间的关系。图 14-29 列出了呼吸链上

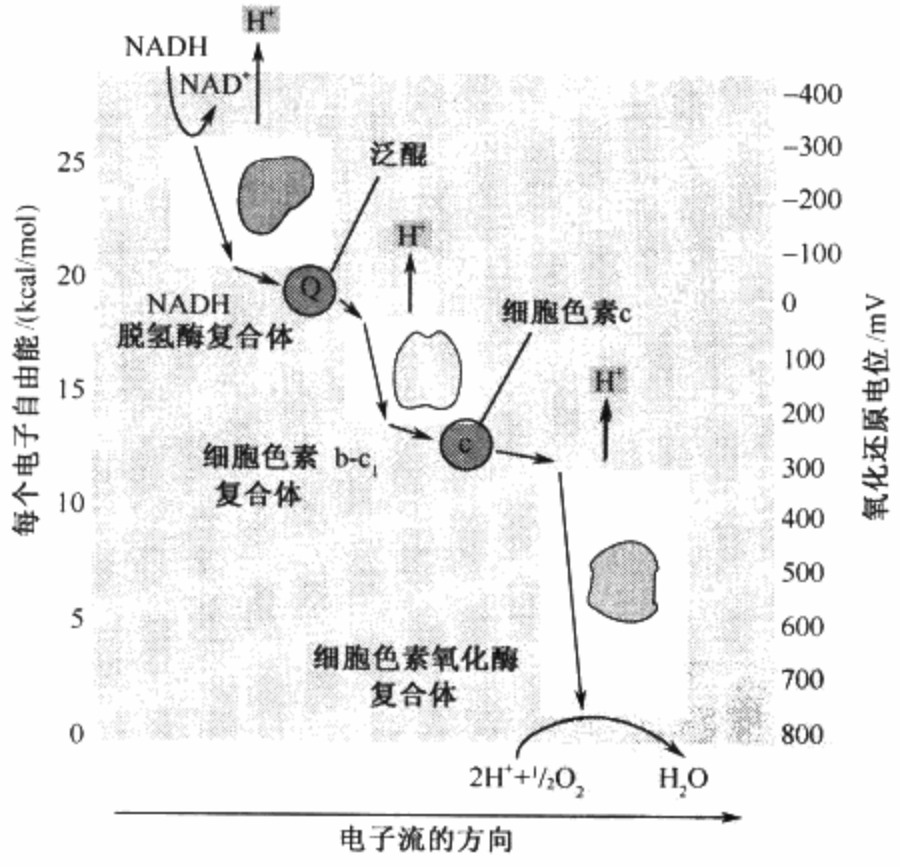


图 14-29　线粒体电子传递链过程中的氧化还原电势变化

电子顺呼吸链传递过程中氧化还原电势（以 E'_0 表示）增加。每传递 NADH 供给的 2 个电子中的一个的标准自由能变化量 ΔG° 可由左边的纵坐标看出［$\Delta G = -n\ (0.023)\ \Delta E'_0$，n 表示电子的个数］。电子按呼吸链的传递顺序依次穿过呼吸作用酶复合体。H^+ 跨线粒体内膜的转运的能量来源于自由能的变化。一般认为，NADH 脱氢酶和细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合体每传递 1 个电子可转运 2 个质子，而细胞色素氧化酶复合体只转运一个。应该注意到，NADH 不是呼吸链中电子的唯一来源，脂肪酸氧化（图 2-77）以及三羧酸循环（图 2-79）产生的黄素 $FADH_2$ 也是电子的来源。$FADH_2$ 产生的 2 个电子不经过 NADH 脱氢酶而是直接传递到泛醌；因此比从 NADH 开始的电子传递所转运的 H^+ 少

各步的氧化还原电势。电势经过三大复合体时下降得最厉害，任何两个电子载体之间的氧化还原电势的变化与电子在二者之间传递释放的自由能呈正比。这些释放的自由能被作为能量转换器的酶复合体再将 H^+ 泵出基质所利用，这样就可以产生跨膜的电化学质子梯度。这一过程可用实验来演示，纯化呼吸酶复合体并将它们分别镶嵌入脂质体中：脂质体两边加入合适的电子给体与受体，这样电子就可以穿过复合体，可以测量出 H^+ 的跨膜转运。

原子水平上对 H^+ 泵的机制理解

一些呼吸酶复合体每传递 1 个电子只转运 1 个 H^+，其他可以转运 2 个。3 个酶复合体电子传递协同 H^+ 转运的机制是不同的。在细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合体电子传递过程中，泛醌也参与其中。泛醌在脂双层中能够自由移动，在膜的内侧吸收 1 个电子之后，将它传到膜外侧的细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合体上。每传递 1 个电子的同时转运 1 个 H^+。但是细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合体每传递 1 个电子转运 2 个电子，为了满足细胞色素 $b\text{-}c_1$ 的要求，辅酶 Q 进行了一次循环，称为 Q 循环。由于现在已通过晶体衍射得到细胞色素 $b\text{-}c_1$ 的完整的结构，因此能够从原子水平上计算出整个过程是怎样发生的（图 14-30）。

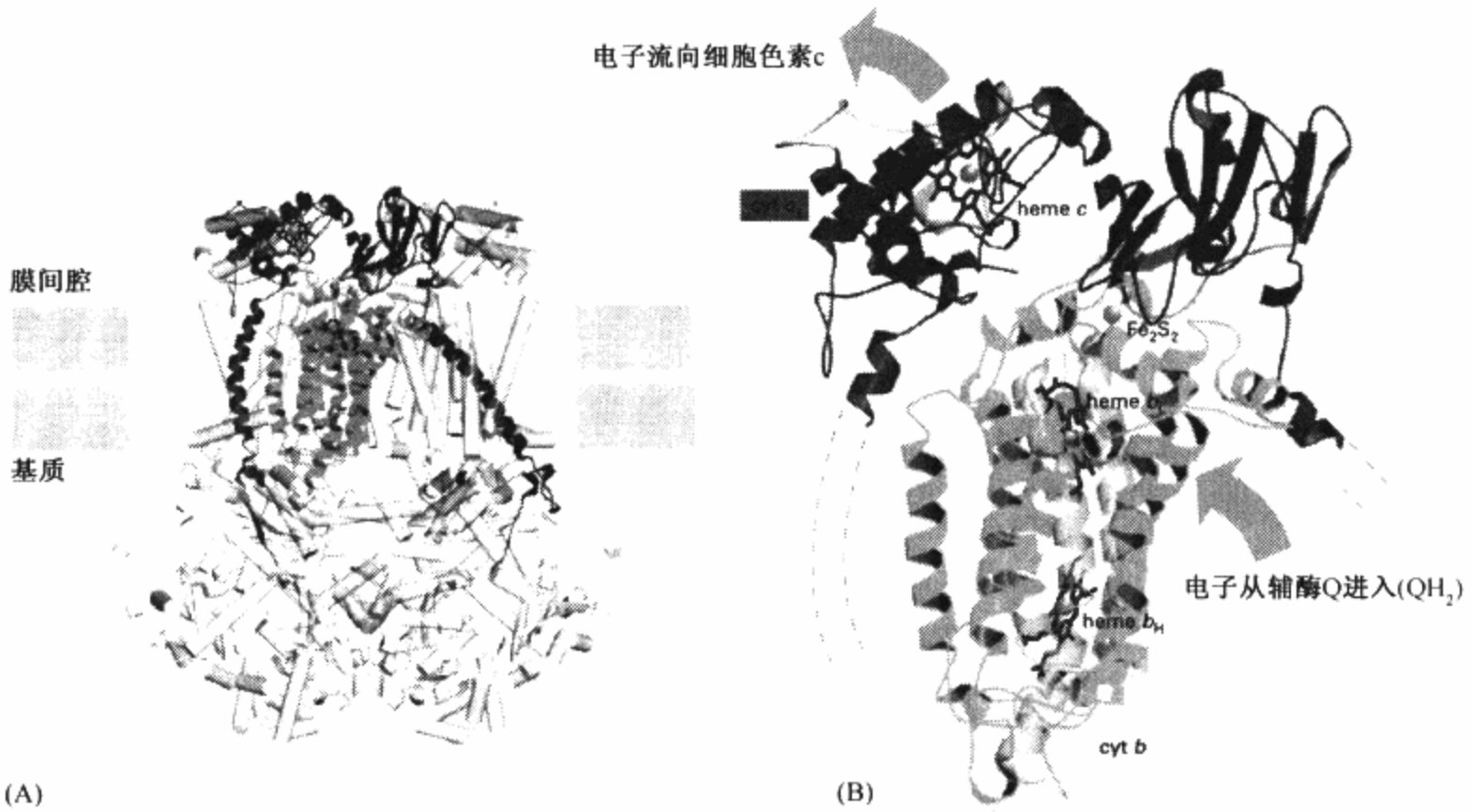


图 14-30　细胞色素 $b\text{-}c_1$ 的分子结构

该蛋白质是二聚体。在哺乳动物中，其单体是由 11 种不同的蛋白质亚基组成。3 个有颜色的蛋白质组分是酶的主要活性中心：细胞色素 b（绿色部分）、细胞色素 c_1（蓝色部分）以及含铁硫中心（紫色部分）的 Rieske 蛋白。（A）显示了这 3 个蛋白质在二聚体中的相互作用。（B）电子载体中电子的传递方向

电子传递引起的蛋白质构象的变化将 H^+ 泵出，ATP 合酶水解 ATP 时又将 H^+ 泵回。NADH 脱氢酶和细胞色素氧化酶都是通过电子传递过程中蛋白质有序的构象变化，使复合体中一部分的蛋白质能够跨线粒体内膜转运 H^+（图 14-31）。

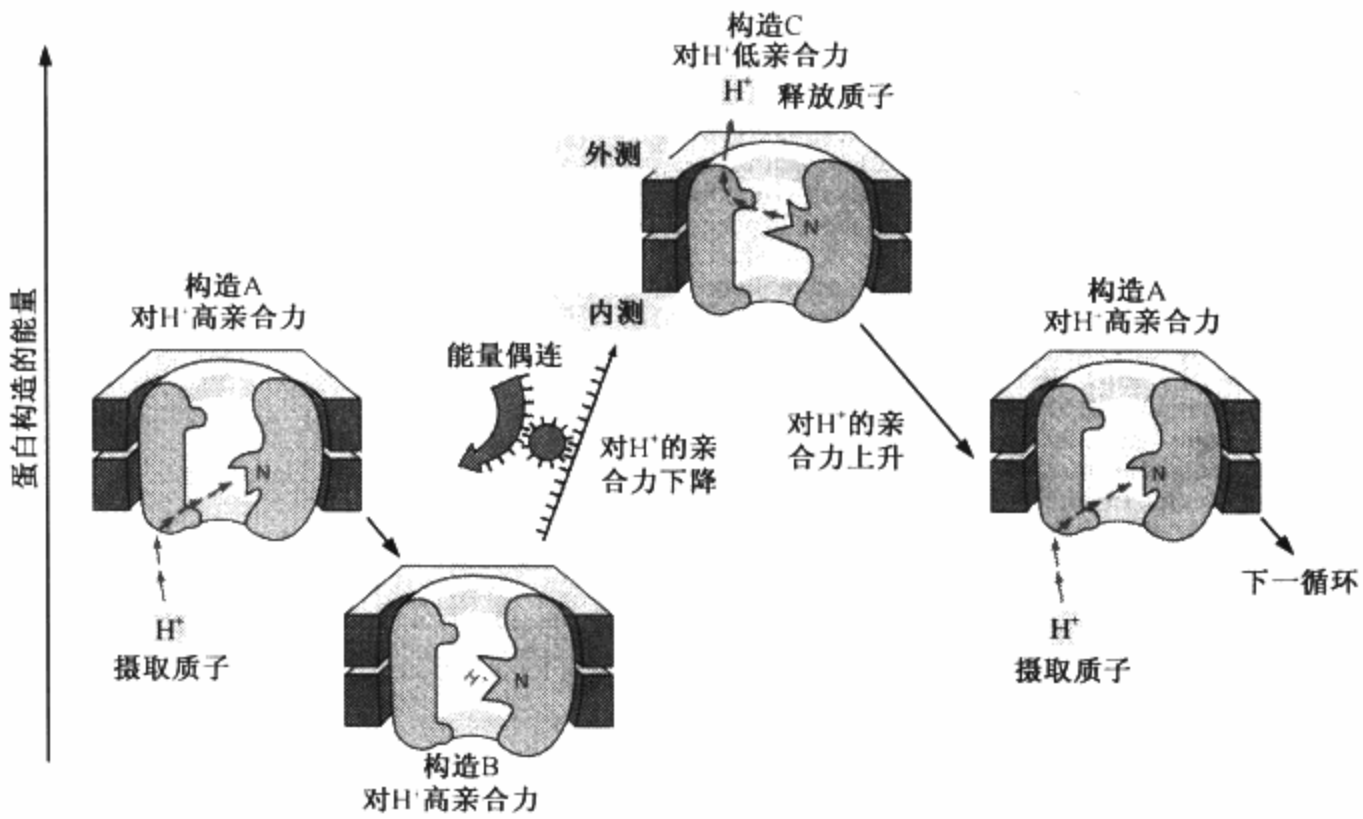


图 14-31　质子的转运模式

该图所示的质子跨膜转运机制被认为同时存在于细胞色素氧化酶和能进行光合作用的原核生物细菌视紫质的质子转运中。转运过程中，蛋白质经过三次构象变化 A、B 和 C。从图中蛋白质的纵切面可以看出，不同的构象具有不同的能量。构象 A 中，蛋白质对质子具有很高的亲和力，使它从膜的内侧摄取一个质子。构象 C 中，蛋白质对质子的亲和力较弱，从膜的外侧将质子释放。由 B→C 将质子释放的转变过程是需能的过程，能量来自于蛋白质其他部分所进行的产能的反应（蓝色箭头所示反应）。A→B 和 C→A 的构象变化是自发进行的，由于整个循环 A→B→C→A→B→C 是释放自由能的，H^+ 就被从线粒体基质中泵到线粒体膜间隙中。在细胞色素氧化酶之中，由 B→C 的转变电子传递释放能量供能，而在细菌视紫红质中，能量是由光提供的（图 10-37）。其他的质子泵能量是由 ATP 提供的

H^+ 载体将电子传递和 ATP 合成过程分开

自 1940 年以来，一些解偶联剂如 2,4-二硝基苯酚被发现，它们能够将 ATP 合成与电子传递过程解偶联。当加入这些低分子质量的有机化合物时，细胞中 ATP 合成过程停止，而线粒体摄取氧的活动却没有停止。可以观察到电子的传递和 H^+ 的转运照常进行，而膜两边的 H^+ 梯度消失。这种现象很容易解释：解偶联剂是脂溶性的弱酸，因此也是一种 H^+ 载体，它们自己又开辟出了除 ATP 合酶之外的其他 H^+ 转运的途径。这样，质子动势随之消失，ATP 合成停止。

呼吸控制正常情况下抑制链中电子的传递

细胞中加入解偶联剂时，线粒体对氧的需求急剧增加，这是因为电子传递的速度加快。而速度的加快反映了**呼吸控制**的存在。呼吸控制的产生是由于电化学质子梯度对电子的传递速率的直接抑制造成的。解偶联剂瓦解了这种梯度，造成电子无任何抑制的以最大的速度前进。相反，梯度一旦增加，电子传递会变得比原来更慢。若人为造成一个大的电化学质子梯度，电子传递速度可以达到零，甚至在呼吸链的某些区域还可以探测到电子的反向流动。由此可见，呼吸控制平衡了偶联质子转运的电子传递以及不偶联质子转运的电子传递之间的自由能变化，即电化学质子梯度的大小影响了电子传递的速度和方向，就像它可以影响 ATP 合酶的催化方向一样（图 14-19）。

呼吸控制只是精细反馈调控的一部分，来协调糖酵解、脂肪酸降解、三羧酸循环以及电

子传递的速率。这些过程的进行速度必须与 ATP 和 ADP 之间的比值相适应，任意能够导致 ATP 过量利用的过程都会使比值下降。例如，ATP 合酶在高浓度的 ADP 和 Pi 存在下合成加速，同时，大量的 H^+ 流入基质，电化学质子梯度急剧下降，此过程又加速了电子传递的速度。

呼吸链中 NADH 的产生和消耗速率也存在着相似的调控，包括一些 ATP 参与的关键酶的反馈抑制调节等。正是由于这些调控机制的存在，机体在紧张运动的时候氧化脂肪和糖的量是休息时的 5～10 倍。

机体自身的解偶联剂将褐色脂肪组织中的线粒体转变成生热器

在一些被称为褐色脂肪组织的脂肪细胞中，线粒体的呼吸作用通常与 ATP 的合成过程解偶联，氧化过程所产生的能量大部分变成热量而不是储存在 ATP 中。这是因为，这些细胞线粒体内膜上有一种能让质子顺电化学梯度转运而不经过 ATP 合酶的特殊转运蛋白。因此，细胞以很快的速度氧化储存的脂肪产生大量热量，只生成极少量的 ATP。含有褐色脂肪的组织被称为“脂肪垫”，它能够帮助冬眠的动物度过寒冷的冬天，保护新生儿的寒冷敏感部位。

细菌也利用化学渗透机制获取能量

细菌可以利用各种各样的能量。需氧菌与动物细胞一样，在将糖氧化成 CO_2 和 H_2O 的同时合成 ATP。质膜上进行的糖酵解、三羧酸循环、呼吸链过程与动物细胞中差不多。严格的厌氧菌或者是只通过糖酵解过程（发酵）或者是通过末端电子受体不是氧的电子传递链来获取能量。电子受体包括含氮化合物（硝酸盐或亚硝酸盐）、含硫化合物（硫酸盐或亚硫酸盐）、含碳化合物（延胡索酸盐或碳酸盐）等。质膜上的电子载体将电子传给这些电子受体，与线粒体上的呼吸链相似。

大多数细菌的质膜上含有与线粒体内膜上相似的 ATP 合酶，利用电子传递链获取能量的细菌，在电子传递的同时将质子泵到胞外，质膜两边就建立起了质子动势来驱动 ATP 合酶合

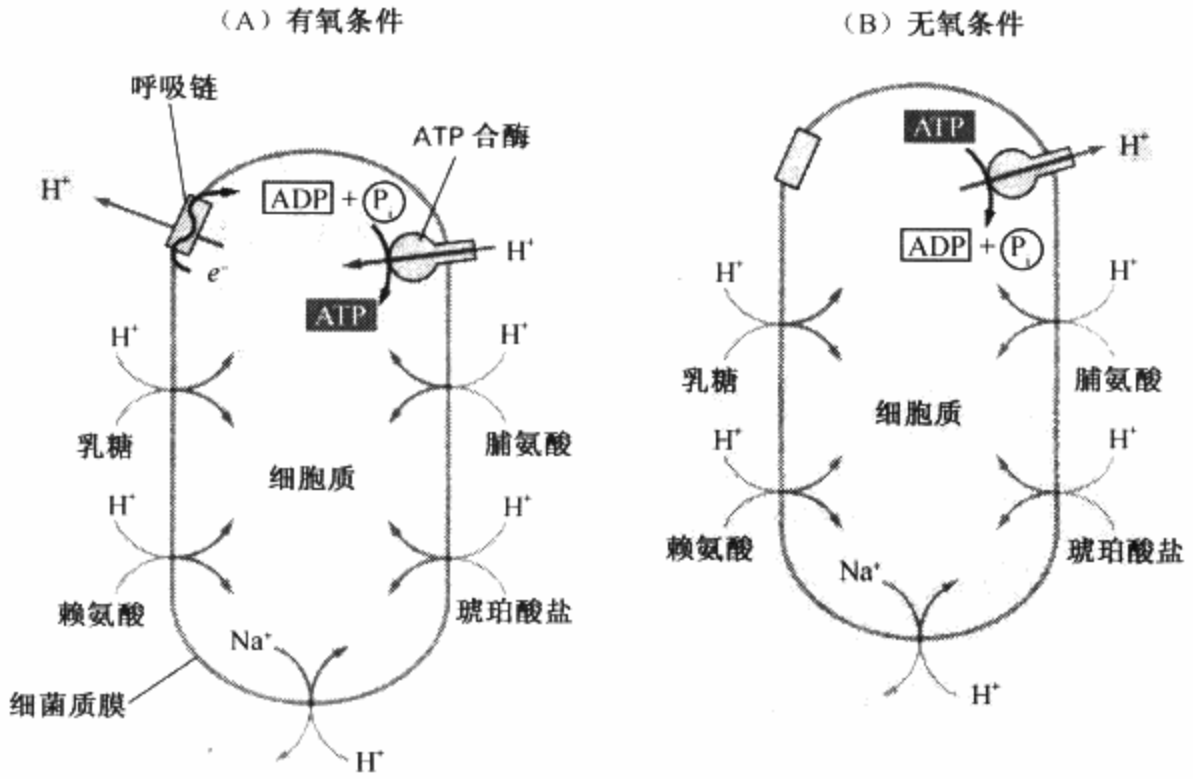


图 14-32　细菌中，质子驱动的转运过程的重要性

跨质膜的质子动势将营养物质泵入细胞，而将 Na^+ 泵出。（A）在需氧细菌中，细菌呼吸链过程所产生的质子动势一方面可以用来摄取营养物质另一方面又来合成 ATP。（B）ATP 的另一个来源——糖酵解过程。部分 ATP 被 ATP 合酶水解来建立跨膜的电化学质子梯度

成 ATP。其他细菌中，ATP 合酶的作用正好相反，利用糖酵解产生的 ATP 来转运质子形成横跨质膜的质子梯度（讨论见第 2 章）。

总之，大多数细菌包括严格的厌氧菌都能形成跨膜的质子梯度。这一梯度可被用于驱动鞭毛，以及通过一个与真核生物细胞中的 Na^+-K^+ 泵相似的 Na^+-H^+ 泵将 Na^+ 泵到胞外。氨基酸、糖等营养物质利用膜上的特异的（图 14-32），同转运蛋白一起将 H^+ 转运到胞内，利用的也是质子梯度。而动物细胞中跨质膜的转运则是由 Na^+-K^+ 泵建立的 Na^+ 梯度所驱动。

一些能够生活在碱性环境中的罕见细菌，其胞质也必须维持生理 pH 才能生存。若在这些细菌的质膜两边建立电化学质子梯度，将形成胞内过酸、胞外过碱的情况，细菌无法存活。因此在这些细菌中的化学渗透过程都是由 Na^+ 代替 H^+。呼吸作用将 Na^+ 泵到胞外，而 Na^+ 在回流的过程中驱动其他物质的转运和鞭毛的运动，ATP 的合成也是由 Na^+ 驱动的。由此可见，化学渗透机制在生物界中质子动势更普遍。

小结

呼吸链中，电子在线粒体内膜从 NADH 传到 O_2 经过了三个重要的酶复合体。

每个酶复合体都可以被纯化，纯化后的蛋白质复合体插入到人工合成的脂质体中，当有电子传递时，可以检测到质子的转运。在完整的膜上，可以自由移动的泛醌和细胞色素 c 通过在酶复合体之间传递电子，连接电子传递链。电子流动的路径是 NADH→NADH 脱氢酶→泛醌→细胞色素 b-c_1 复合体→细胞色素 c→细胞色素氧化酶复合体→分子氧（O_2）。

呼吸酶复合体能够偶联电子传递和 H^+ 泵出基质两个过程。ATP 合酶能够利用形成的电化学质子梯度合成 ATP，该酶能够催化该反应向两个方向进行。正常情况下，按 ADP+P_i→ATP 的方向进行，这个过程伴随着质子的回流。相反，当电化学质子梯度降低到一定的程度，ATP 合酶能够水解 ATP，并将质子泵出基质。在线粒体、叶绿体、原核生物中的广泛存在证明化学渗透机制的重要作用。

叶绿体和光合作用

所有的动物和大多数微生物靠源源不断地从环境中摄取有机物生存。这些化合物微生物合成提供碳骨架以及生命代谢活动所需的能量。科学家们相信在远古时代出现的第一个生命体能够利用地球化学反应所形成的丰富的有机化合物，但几十亿年过后，这些化合物已经被用尽。从这时起，细胞所需要的大量的有机物就通过能进行光合作用的生物体所提供，包括许多光合作用细菌。

最高级的光合作用细菌是藻青菌，其对外界营养物质的需求很低。它能够利用水中的电子以及太阳能将大气中的 CO_2 转化成有机物，这一过程被称为碳固定。在总反应 $nH_2O+nCO_2 \xrightarrow{光} (CH_2O)_n+nO_2$ 中，水被分解，并有氧气释放。由这一部分可以看出，正是由于从更为原始光合作用细菌演化而来的藻青菌，才使可以利用氧的生物逐渐发展起来。

植物和藻类是较晚的时候才出现的，光合作用发生在一个特殊的细胞器——**叶绿体**中。叶绿体只有在白天才进行光合作用，其中间产物 NADPH 和 ATP 可以用来产生许多有机分子。在植物中，这些产物包括低分子质量的糖（一般是蔗糖），从发生光合作用的细胞中运出但不能进行光合作用的细胞中使用。

生物化学和基因方面的证据都支持叶绿体是被真核细胞通过胞吞作用摄取的产氧光合细

菌。线粒体则也被认为是内吞的细菌。叶绿体和线粒体的许多不同反映了二者的祖先不同以及在随后的进化过程中分开了。但是，叶绿体中光驱动的 ATP 合成机制与前面所讲的呼吸作用驱动的 ATP 的合成有很多相似之处。

叶绿体是质体家族中的一员

叶绿体是**质体**家族中最显赫的成员之一。质体存在于所有的植物细胞中，尽管每个细胞类型的质体都会有一些不同的地方，但某些特征是共有的。更显著的是，在特殊的植物种类中所有的质体都包含多拷贝的同样的小基因组。另外，质体都具有双层膜结构。

在第 12 章讨论过（图 12-3），质体是由分裂组织不成熟细胞中的小细胞器——前质体转化而来［图 14-33(A)］。随着细胞的逐渐分化，前质体也随之转变，而转变的类型很大程度上是由核基因组决定的。当叶子生长在黑暗中时，前质体变大发育成白色体。在其内膜上再列有黄色的半结晶状的叶绿素前体。当白天暴露于阳光下，前体会马上转变成叶绿素，并合成新的色素，光合作用过程所需的酶，以及电子传递链的各种组分，这样白色体随之转变成叶绿体。

白色体存在于那些非绿色不能进行光合作用的表皮或内层组织中，比黑暗中的变大的前质体稍小。白色体中最普通的形势是淀粉体［图 14-33(B)］。淀粉粒存在于储藏组织中，其中含有大量的淀粉，淀粉是一种多聚糖，是植物所利用的糖类的主要来源。甚至在一些植物（如马铃薯）中，淀粉体可以长得跟动物细胞一样大。

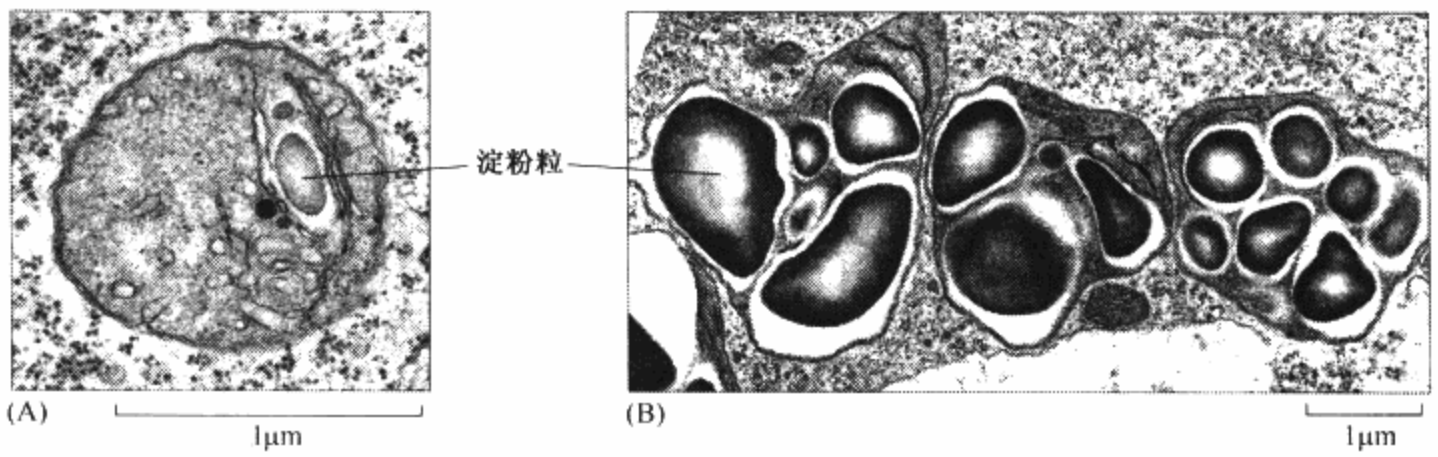


图 14-33　质体的多样性

（A）豆科植物根尖细胞中的前质体。可以看到，其具有双层膜；内膜又产生出一些稀疏可见的内部的膜系统。（B）大豆根尖细胞中的 3 个淀粉粒（来自于白色体），用来储藏淀粉（摘自 B. Gunning and M. Steer, Plant Cell Biology: Structure and Function. Sudbury, MA: Jones & Bartlett, 1996. © Jones & Bartlett Publishers）

植物中的质体其实不仅可以进行光合作用，储存营养物质，还可以区室化各种代谢的中间产物。例如，嘌呤、嘧啶的合成，大部分氨基酸的合成以及所有的脂肪酸的合成都在质体中进行。而在动物细胞中，这些过程发生在细胞质中。

叶绿体类似线粒体但内含有许多区室化的囊泡

叶绿体［图 14-34(A)］比线粒体大，与线粒体一样通过化学渗透机制进行能量变换。双层膜中外膜具有高渗透性，内膜渗透性较低。内膜上镶嵌有转运蛋白，内外膜构成叶绿体的被膜，二者之间有一个狭窄的空间［图 14-34(B)、(C)］。内膜包围的大的空间是叶绿体的**基质**，与线粒体的基质类似含有大量的代谢酶。叶绿体也具有自己的基因组遗传系统，因此基质中含有核糖体、RNA 和叶绿体 DNA。

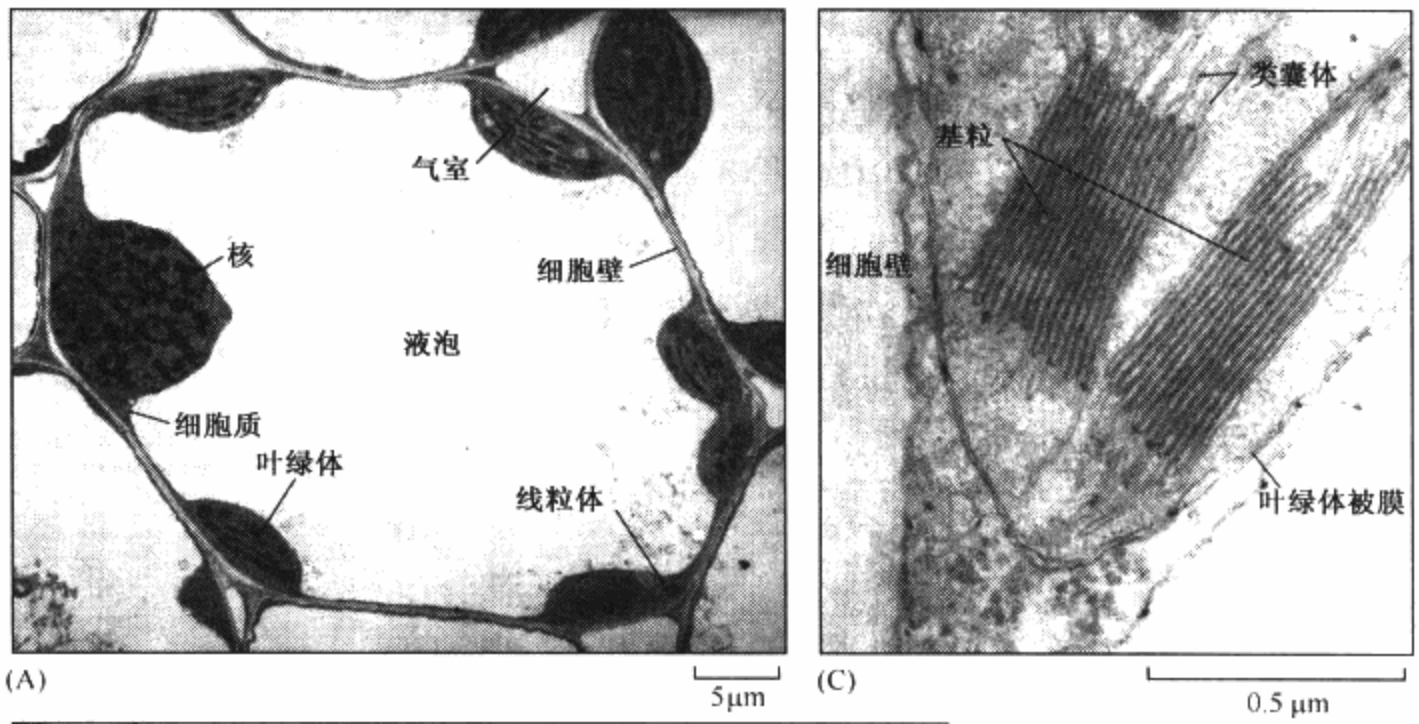


图 14-34　叶绿体的电子显微照片

（A）小麦叶子细胞中，在胞质边缘很窄的部分含有叶绿体、细胞核和线粒体，中间有大的液泡。（B）这是一个叶绿体，由图中可以看到叶绿体的被膜、淀粉粒和有基质中的生化反应所产生的油滴。（C）两个放大的叶绿体基粒图，基粒是由类囊梯堆叠而成的

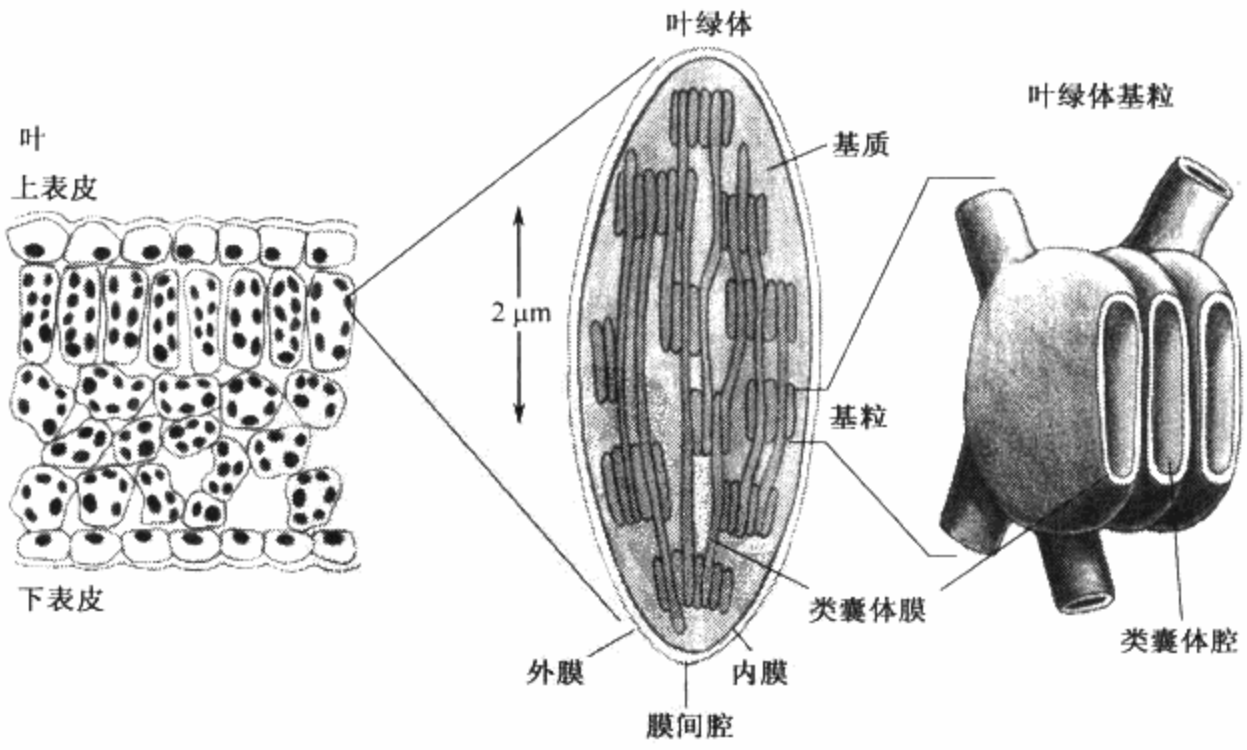


图 14-35　叶绿体

这个光合作用细胞器含有三类不同的膜（叶绿体外膜、内膜和类囊体膜），它们将叶绿体分成不同的区室（膜间隙、基质和类囊体空间）。类囊体膜是进行光合作用的地方，含有叶绿素。在电子显微图片中可以看出，类囊体似乎是扁平囊泡（图 14-34），但它们很可能相互重叠，最后连成一体。从图中可以看出，类囊体是相互联系的，基粒是由它们相互堆叠产生的

叶绿体和线粒体的结构也有许多不同的地方，叶绿体内膜没有向内折叠形成嵴状，也不含有电子传递链系统，而是被光合作用中的捕光系统所代替。ATP 合酶全部位于线粒体的第三层膜系统——类囊体膜上，类囊体是扁平如圆盘的液囊（图 14-35）。类囊体的内腔是相通的，这种互相连通的空间被称为类囊体腔，腔与线粒体基质类囊体膜隔开。

图 14-36 显示了线粒体和叶绿体的相同点和不同点。叶绿体的 ATP 合酶的头由类囊体膜伸向类囊体基质，在线粒体中是由线粒体内膜伸向基质的。

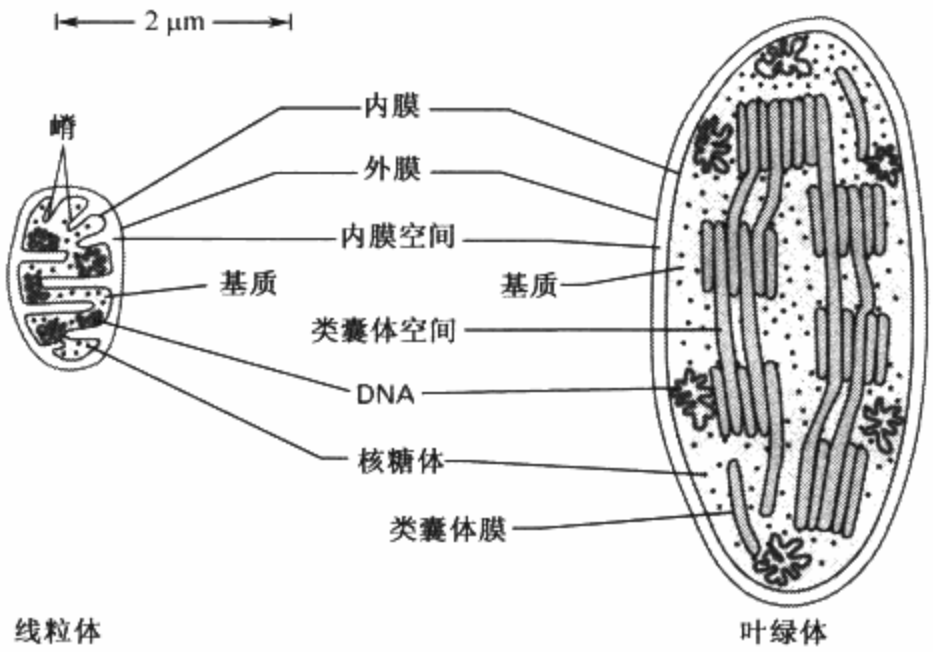


图 14-36　线粒体与叶绿体图的比较

叶绿体通常情况下比线粒体大，除了具有内外膜之外，还有类囊体膜。线粒体与内膜不同的是，其内膜向基质中突起形成嵴，扩大了内膜的面积

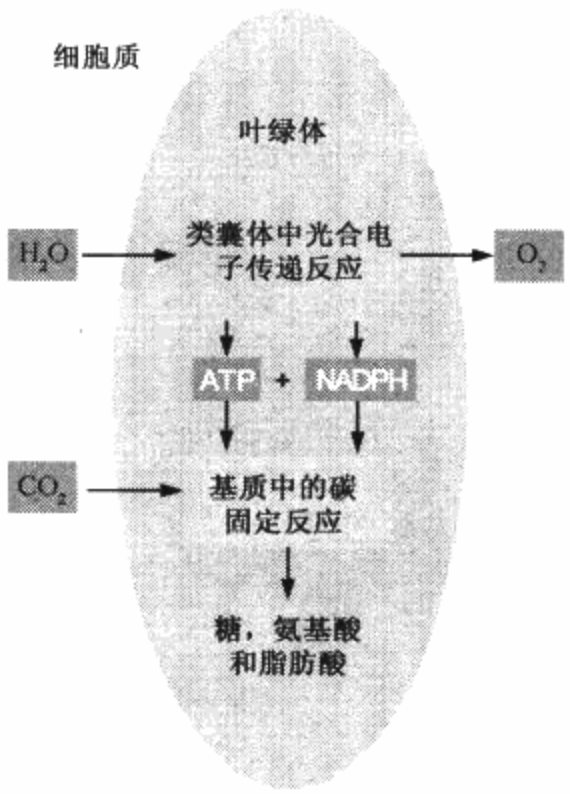


图 14-37　叶绿体中的光合作用

光合反应电子传递过程中水被氧化释放出氧气，而二氧化碳被同化产生糖和其他各种各样的碳固定反应过程中的有机分子

叶绿体利用光能进行碳的固定

植物中进行的光合反应可以分为两大类：

1. **光合作用电子传递**的反应（称为“光反应”）。植物绿色组织中的叶绿素吸收太阳光能激发一个电子沿电子传递链进行传递。这一过程与线粒体的呼吸链电子传递差不多。叶绿素从水中获得电子，产生副产物氧气。电子传递偶联着 H^+ 泵出类囊体膜，形成跨膜的电化学质子梯度，用来驱动基质中 ATP 的合成，最后高能电子（和 H^+ 一起）与 $NADP^+$ 结合生成 NADPH，这一过程只在叶绿体中进行。

2. **碳固定的反应**（称为“暗反应”）。“光反应”阶段生成的 NADPH 和 ATP 分别作为能量和还原力的来源驱动 CO_2 转化成糖类。碳固定的反应过程开始在叶绿体的基质中进行，后转移到细胞质中进行，产物包括蔗糖和其他有机化合物。蔗糖在植物的生长既是有机分子的来源又可作为能量的来源。

ATP、NADPH 和 O_2 的合成过程（直接利用光能）以及 CO_2 到糖的合成过程（间接利用光源）是各自独

立的过程（图 14-37），但二者之间可以互相反馈调节。例如，碳固定过程的一些酶在黑暗中没有活性，但可以被光激发的电子传递过程所激活。

核酮糖二磷酸羧化酶催化碳固定

在这一章的前面我们已经讲了细胞是怎样通过糖氧化成 CO_2 和 H_2O 产生 ATP 并获取能量的。因此可以看出，该反应相反的过程即由 CO_2 和 H_2O 合成糖的过程必须有其他反应提供能量来驱动。

碳固定即将一个无机形式的碳转化成有机形式的碳，如图 14-38 所示：空气中的 CO_2 与核酮糖 1,5-二磷酸和水一起结合产生 2 分子的三碳化合物——三磷酸甘油酸。碳固定反应发现于 1948 年，该反应由叶绿体基质中最大的酶——核酮糖二磷酸羧化酶所催化。由于反应底物移动缓慢，每秒钟只能传递 3 个底物给酶，而酶每秒钟需要 1000 个底物分子。所以该反应需要大量的酶参与，这就是为什么叶绿体蛋白的 50%是核酮糖二磷酸羧化酶，被认为是地球上最丰富的蛋白质。

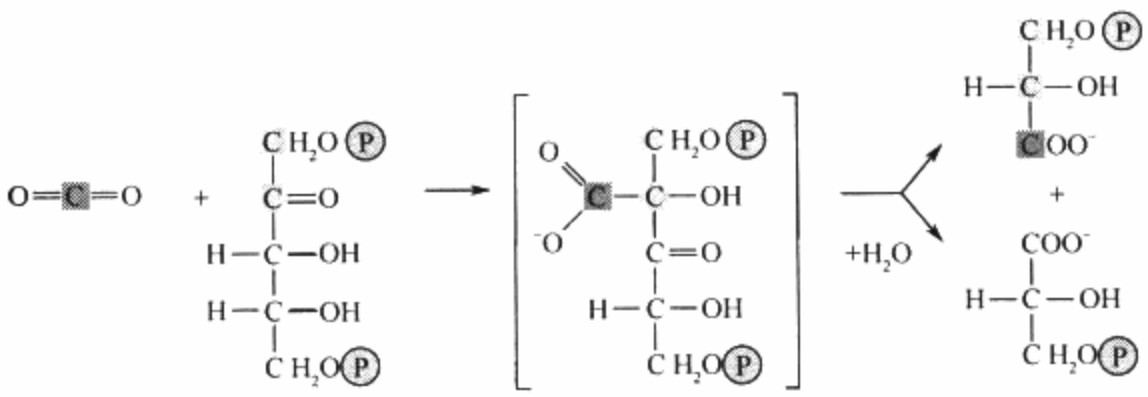


图 14-38　碳固定过程的原初反应

这个反应由叶绿体基质中含量最丰富的核酮糖二磷酸羧化酶所催化。反应过程中，二氧化碳转变成有机碳化合物。产物是三磷酸甘油酸，该产物也是糖酵解过程的中间产物。图中有蓝色阴影的两个碳原子在同一个酶催化底物与氧气的反应中用于产生磷酸乙醇酸（下面将详细介绍）

每固定 1 分子 CO_2 需要消耗 3 分子的 ATP 和 2 分子的 NADPH

CO_2 固定的反应之所以能够发生是由于核酮糖-1,5-二磷酸与 CO_2 的结合释放出大量的能量（图 14-38）。生成核酮糖-1,5-二磷酸的代谢途径需要 ATP 和 NADPH 的参与。同位素示踪技术在生化反应中的成功运用才使该反应的完整过程比较清楚。图 14-39 演示了**碳固定**的整个过程（又叫**卡尔文循环**）。反应是从核酮糖二磷酸羧化酶催化 3 分子的 CO_2 参加反应生成 6 分子三磷酸甘油酸开始的（共 $3\times6=18$ 个碳原子，其中 3 个来自于 CO_2，15 个来自于核酮糖-1,5-二磷酸）。这 18 个碳原子通过卡尔文循环又产生 3 分子的核酮糖-1,5-二磷酸（含有 $3\times5=15$ 个碳原子）被循环利用。整个反应过程净产生 1 分子的三磷酸甘油醛。

每分子的 CO_2 通过反应转变成碳水化合物同时，总共消耗 3 分子的 ATP 和 2 分子的 NADPH。整个反应过程方程式为：

$$3CO_2+9ATP+6NADPH+H_2O$$

$$\text{甘油醛 3-磷酸}+8Pi+9ADP+6NADP^+$$

因此，磷酸键能（如 ATP）和还原力（如 NADPH）两者都是由二氧化碳和水合成有机

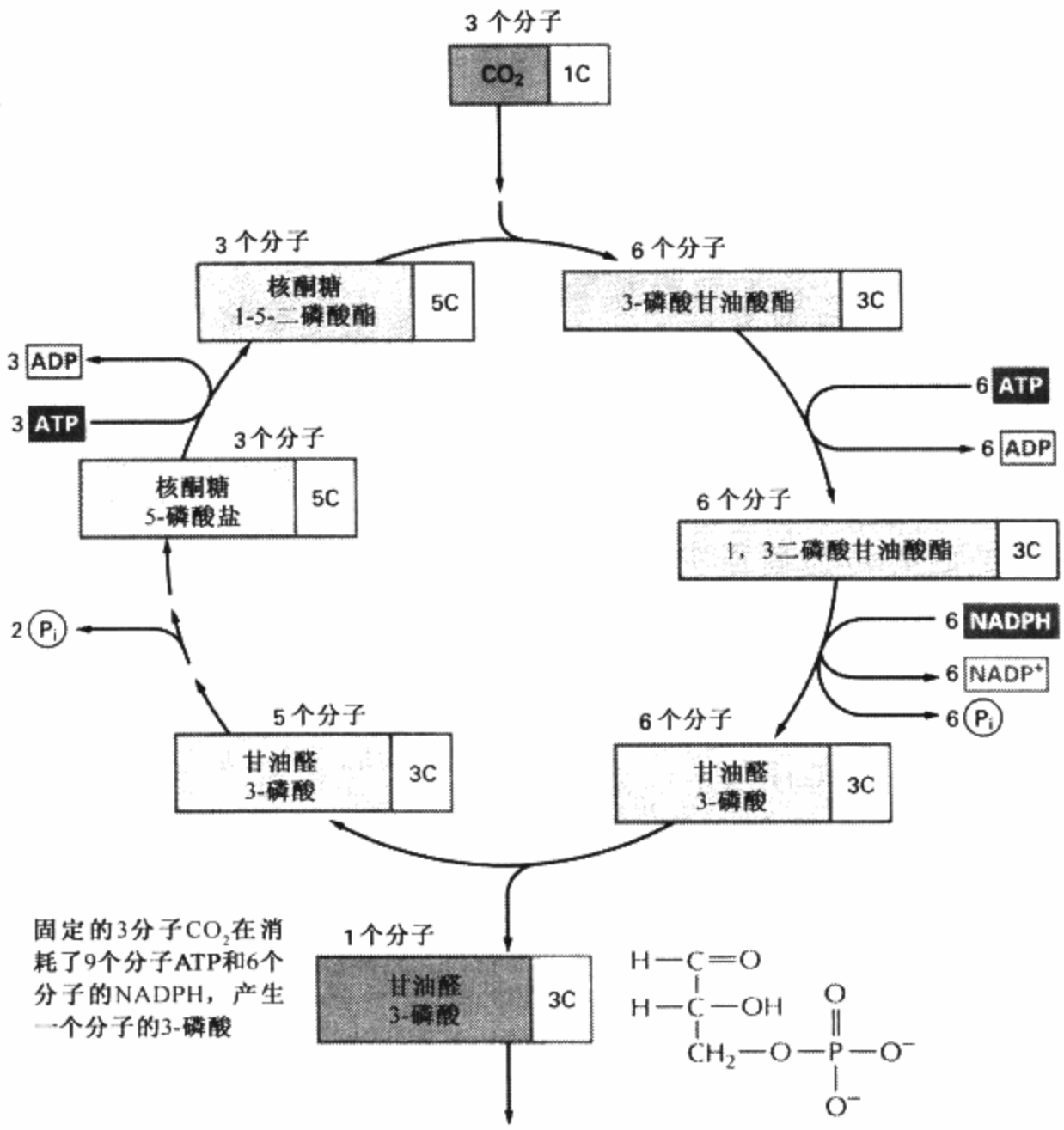


图 14-39　固碳循环可以以 CO_2 和水产生有机分子

分子所必需的。我们以后会再次讨论这个问题。

叶绿体内由碳固定循环途径产生的三磷酸甘油醛是三碳糖，它也是酵解途径的重要中间物。一些三磷酸甘油醛被转运到细胞质中，在那里通过糖酵解途径的逆行转变成果糖-6-磷酸和葡萄糖 1 磷酸（专题 2-8）。葡萄糖-1-磷酸然后被转变为 UDP-葡萄糖糖苷，并与果糖-6-磷酸结合形成磷酸蔗糖，磷酸蔗糖是蔗糖的直接前体。蔗糖是植物细胞糖类运输的主要形式：就像葡萄糖在动物血液内运输，蔗糖通过维管束从叶子出来，为植物其他部分提供碳源。

大多数三磷酸甘油醛留在叶绿体内，在基质内转变为淀粉。就像动物细胞中的糖原，淀粉也是葡萄糖的多聚物，也是碳源的储存形式［图 14-33(B)］。淀粉的合成是受调控的，在光合作用能力过剩的时候，淀粉在叶绿体基质内合成并储存。基质内的反应是糖酵解途径的逆行：三磷酸甘油醛被转变为葡萄糖-1-磷酸，然后生成淀粉的直接前体——ADP-葡萄糖糖苷。夜间淀粉分解，用来维持植物必需的代谢需要。淀粉是所有植食动物食物的重要组成部分。

某些植物的固碳反应通过区隔化来满足低二氧化碳浓度下的生长

尽管核糖二磷酸碳酸酶能够特异性地把二氧化碳加到核糖-1,5-二磷酸上，它还能以氧气（取代二氧化碳）为底物，在二氧化碳浓度低的时候，把氧气加到核糖-1，5-二磷酸上

(图 14-38)。这是**光呼吸**途径的第一步反应，该途径的最终效果就是耗尽氧气和游离的二氧化碳而不产生有用的能量储存。在许多植物中，大约有 1/3 固定的二氧化碳会由于光呼吸而再次以游离的二氧化碳丢掉。

光呼吸对高温、干燥环境下的植物来说是严重的负担，植物会关闭气孔（植物叶面气体交换的孔）来避免过多的水分丢失。这反过来会使叶中的二氧化碳浓度急剧下降，因而促进了光呼吸的进行。但是许多植物（如生活在高温、干旱环境中的玉米和甘蔗）叶子中都存在一种特殊的适应方式，这些植物的固碳循环只发生在特化的维管束鞘细胞的叶绿体内。植物体内所有的核糖二磷酸碳酸酶都存在于维管束鞘细胞中，这些细胞被一层特化的叶肉细胞包围并与空气隔绝，这些叶肉细胞利用其叶绿体收集的能量把二氧化碳“泵”到微管束鞘细胞。这样为核糖二磷酸碳酸酶提供了足够高的二氧化碳浓度，因此大大减少了光呼吸反应（图 14-40）。

二氧化碳泵的产生开始于叶肉细胞的胞质溶胶中的一个反应循环。二氧化碳的固定是一个酶催化反应，该酶与二氧化碳（以碳酸氢盐的形式）结合，再与一个活化的三碳分子化合，产生一个四碳分子。然后，四碳分子扩散进入维管束鞘细胞，并在此降解后释放一个 CO_2 分子，形成一个三碳分子。最后，三碳分子回到叶肉细胞，并转化成原来的活性形式，至此，泵循环结束。因为最初捕获的二氧化碳分子被转化成一个四碳化合物，所以含有二氧化碳泵的植物被称之为 C_4 植物。所有其他植物则称之为 C_3 植物，因为它们将捕获的二氧化碳转化成三碳化合物 3-磷酸甘油酯（图 14-40）。

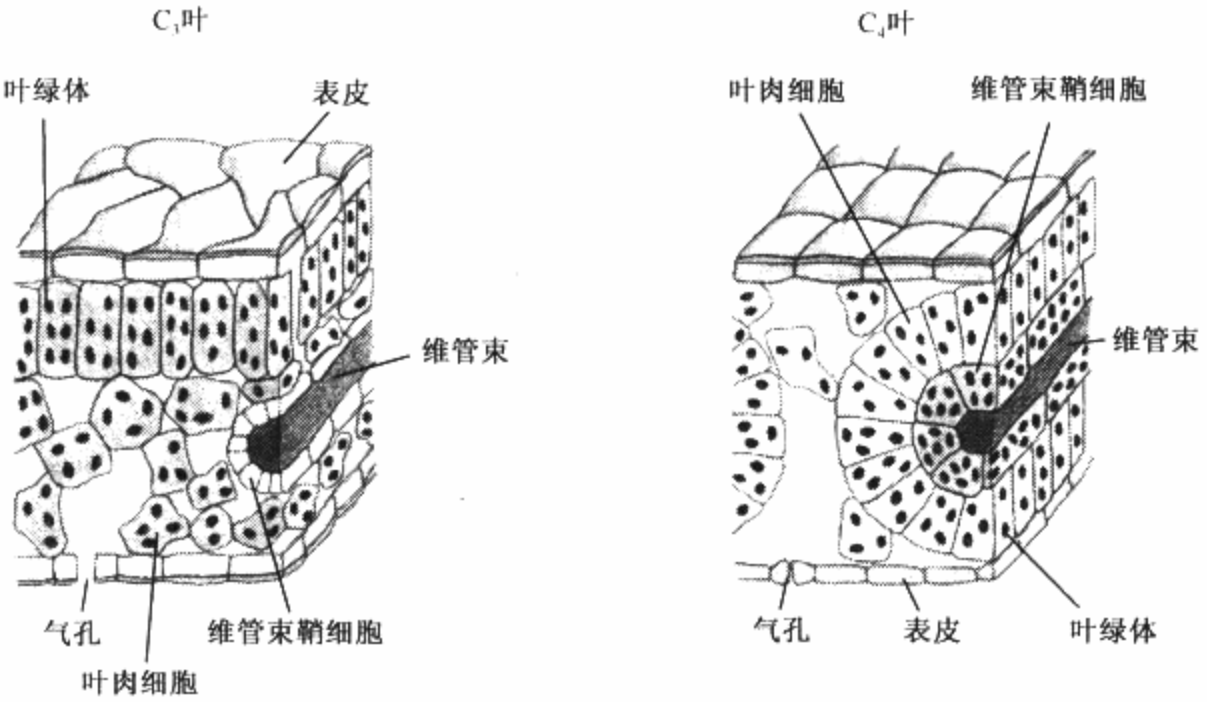


图 14-40　C_3、C_4植物的比较解剖学

绿色叶子的细胞中含有叶绿体，固碳循环在其中进行。C_4 植物中，叶肉细胞专门用于吸收 CO_2 而不是固碳，因而，在微管束鞘细胞中，CO_2/O_2 比率很高，微管束鞘细胞是植物中固碳循环发生的唯一场所。微管束把叶子中合成的糖运输到其他组织中

将二氧化碳泵入 C_4 植物维管束细胞的任何一种向量运输过程都需要消耗能量。然而，在炎热干燥的环境中，这比 C_3 植物中的光呼吸所消耗的能量要少得多，因此，C_4 植物具有潜在的优势。此外，由于 C_4 植物能在叶片内二氧化碳浓度较低时进行光合作用，它们需要开放气孔的次数减少，因此每单位的水能固定两倍于 C_3 植物的净碳。尽管大多数植物种类是 C_3 植物，但是 C_4 植物（例如玉米和甘蔗）比 C_3 植物（例如谷物）能更有效地将太阳能转化成生物量。因此，C_4 植物在世界农业中特别重要的意义。

光合作用依赖于叶绿素分子的光化学特性

在讨论了碳固定反应之后，我们现在回到这样一个问题，即在叶绿体中进行的光合作用电子传递反应如何产生驱动二氧化碳和水合成碳水化合物所需的 ATP 和 NADPH。所需的能量来自叶绿素分子所吸收的太阳光（图 14-41）。当一个叶绿素分子被一个光量子（即光子）所激活，一个电子从一个分子轨道转移到另一个更高能量的分子轨道时，能量转化过程就此开始。如图 14-42 所示，活化的叶绿素分子是不稳定的，它倾向于通过以下三种方式之一回到未激化的初始状态：

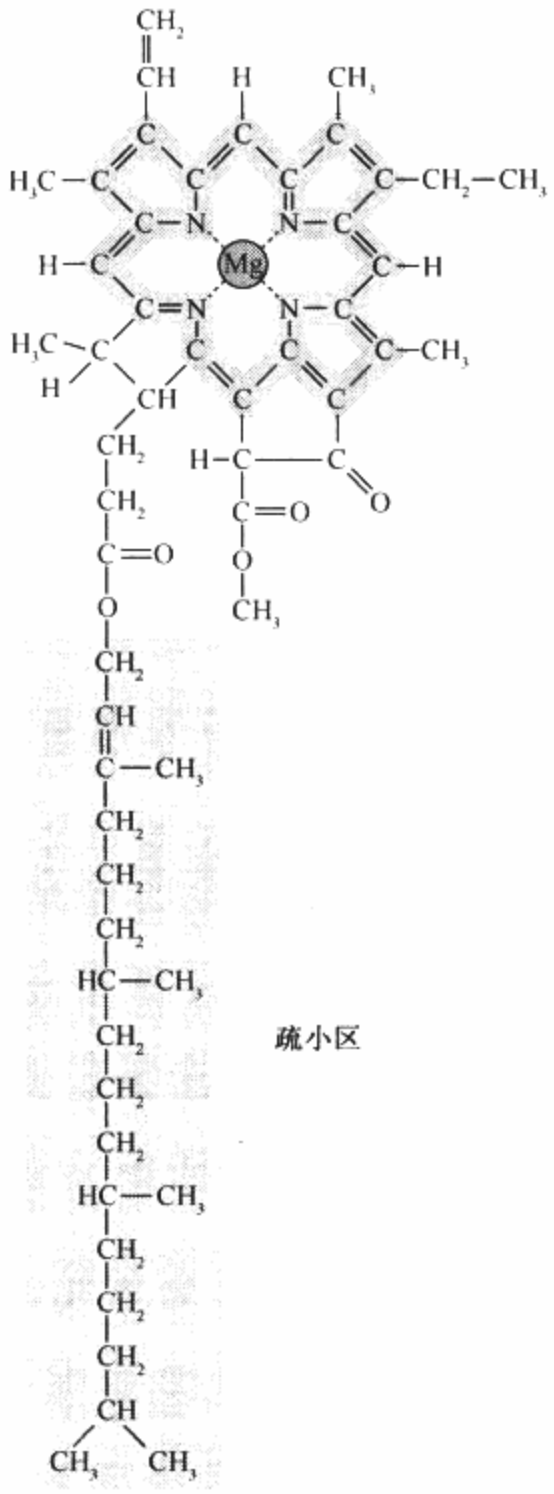


图 14-41　叶绿素的结构

一个镁原子位于卟啉环的中央，与亚铁血红素中卟啉环结合铁离子相关（图 14-22）。电子不定性的分布在键的周围，即蓝色部分

1. 通过将额外能量转换成热（分子运动）或者热和长波长光（荧光）的某种组合，这种方式发生于光能被溶液中一个隔离的叶绿素分子所吸收的情况。

2. 通过一个称之为**共振能量传递**（**resonance energy transfer**）的过程将能量——而不是电子——直接转移给附近的一个叶绿素分子。

3. 通过将这一高能电子转移给附近的另一个分子——电子受体（electron acceptor），然后吸收某个其他分子——**电子供体**（**electron donor**）的低能电子，回到其初始能量状态。

后两种机制发生于光合作用过程中。

一个光合体系是由一个反应中心加一个天线复合体组成的

一个叫**光合体系**的多蛋白质联合体催化光能到有用的形式的转变，那些光能是由激化的叶绿素分子所捕获的。一个光合体系包含两个紧密联系的组分：天线联合体，包含一系列的很多的色素分子，用来捕获光能和供应给反应中心；光化反应中心，包含蛋白质联合体和叶绿素分子，可以使光能转化成为化学能（图 14-43）。

天线联合体对于捕获光能很重要，在叶绿体里有很多不同的膜蛋白联合体（光收获联合体）；这些蛋白质在每个反应中心都绑住了数百个叶绿素分子，并在类囊体膜上准确的给它们定位。对于植物来说，不同数量的附属色素，叫做类胡萝卜素，也在每个联合体上，它们可以保护叶绿素免受氧化并且可以帮忙收集其他波长的光。当在天线联合体上的叶绿素分子被激活的时候，能量就会通过能量共振转移快速的从一个分子传递到另一个分子，直到能量到达在光化反应中心中的特殊的叶绿素分子对上。每个天线联合体都像一个漏斗，可以收集光能并把它们转移到特别的地点，在那里它们可以被高效地利用（图 14-43）。

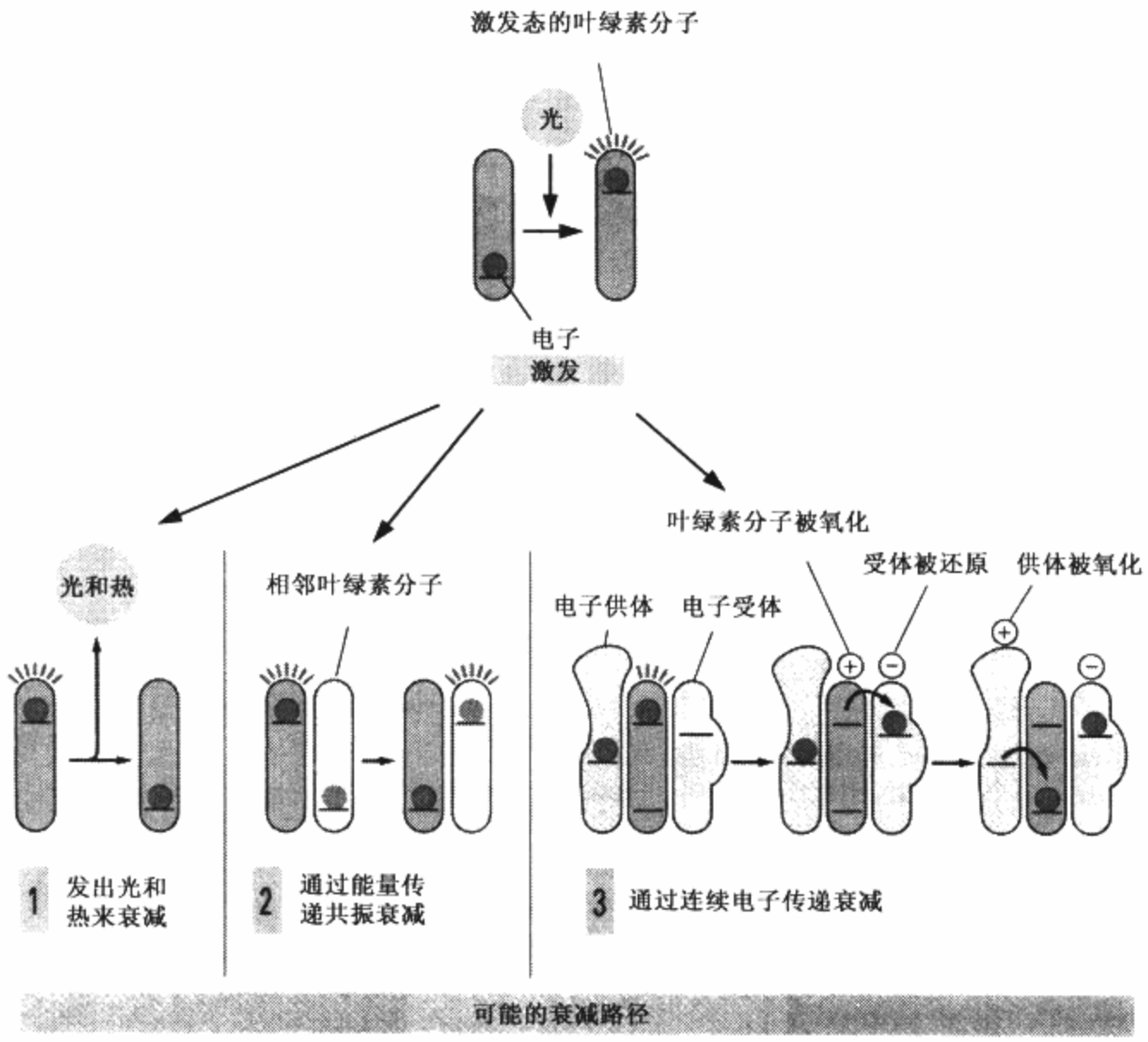


图 14-42　激发态叶绿素回到基态的 3 条途径

过程 1，一个独立的叶绿素分子吸收光能后，以光和热的形式完全释放能量；相反，过程 2，光合作用时，叶绿素通过天线复合体转移能量；过程 3 为反应中心，即文中所述

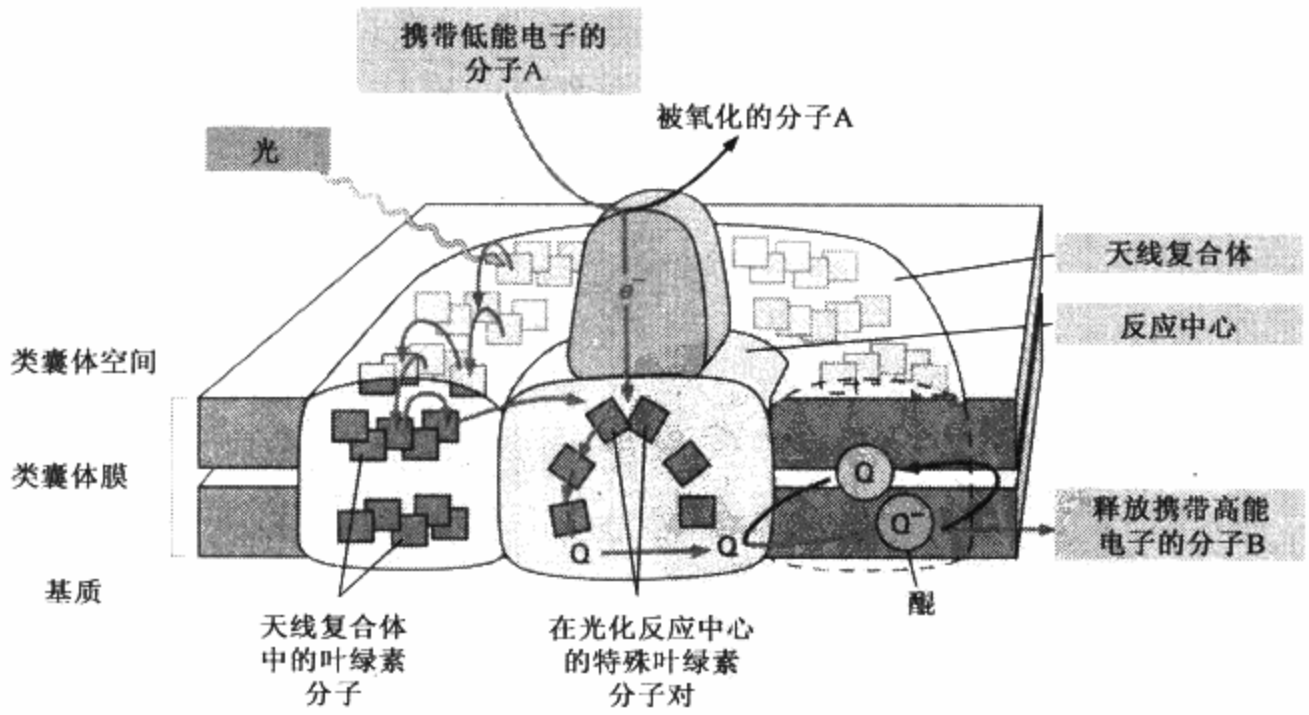


图 14-43　天线复合体和光合系统中的生化反应中心

天线复合体已受激电子的形式捕获光能。受激电子的能量是漏斗状的，通过一系列能量共振转移到位于光化学反应中心的一对特殊的叶绿素分子上。然后，反应中心产生一个高能电子，此电子通过泛醌快速转移到位于类囊体膜上的电子传递链上

光化反应中心是一个位于光合反应的心脏部位的横跨膜的蛋白质-色素联合体，普遍认为它是在 30 亿年前在原始的光合细菌中进化来的。在反应中心的特殊的叶绿素分子对是作为在激化量子中的一个不可取消的阀门，因为它激化了的电子迅速地传递到在相同的蛋白质联合体上的作为邻居而精确定位的电子受体链上(图 14-44)。通过把高能量的电子迅速的从叶绿素上移走，光化反应中心把它传递到一个它更为稳定的环境中。因此电子为接下来的反应而被适合的定位，这时反应需要更多的时间来完成。

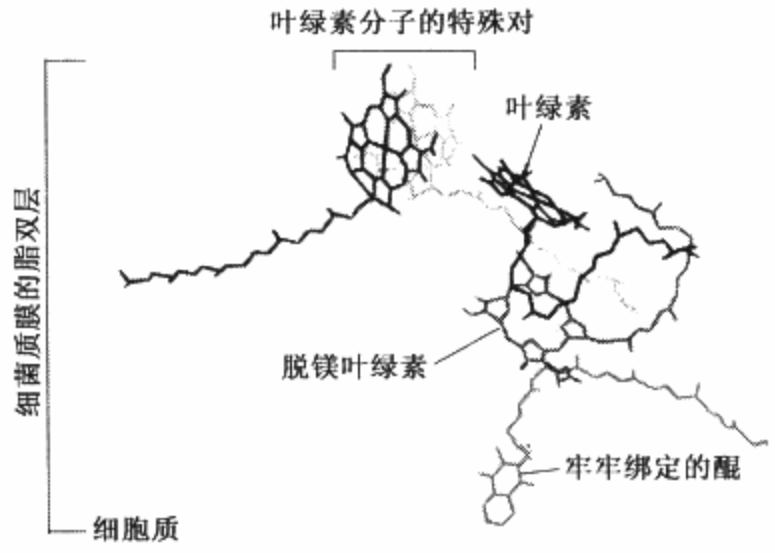


图 14-44　由 X 射线晶体学决定的细菌光化学反应中心的电子受体排列

所指的色素分子在转膜蛋白内部，由细菌质膜的脂双层分子包围。在这对特殊的叶绿素分子中的电子由一个天线复合体叶绿素分子共振激活，然后这个激活的电子逐渐转移到醌上（图 14-45）。一个相似的电子受体排列，在植物的反应中心也存在

在反应中心，被叶绿素捕获的光能从弱的个体中引出强的给电子体

在光化反应中涉及的电子传输已经通过迅速分光镜的方法被广泛地分析。大量的紫细菌光合系统的细节的信息是可得到的，在一定程度上比在叶绿体中光合系统的进化要简单。在光合系统中的反应中心是一个巨大的蛋白质-色素综合体，可以用去污剂溶解并在活化形式下纯化。在 1985 年，它的完整的三维结构被 X 射线结晶学确定（图 10-38）。这个结构，通过与动力学数据结合，提供了我们所拥有的关于最初电子传递反应的最好的图片，这个反应是光合反应的基础。

在紫细菌反应中心发生电子传递的顺序在图 14-45 中展示。就像在以前一般的例子所描述的那样（图 14-43），在它的简约型中光引起了从弱的给电子体（分子对电子有强的吸引力）到强的给电子体之间的电子传递网络。在叶绿素中的激发能可以以荧光或热的形式释放，因此这些能量被改为用来创造强的给电子体（分子中带有高能量的电子），以前从来没有过。在紫细菌中，用来填满由光引导的电荷分离的电子缺乏的突破口的弱给电子体是一种色素（见图 14-45），产生的强电子供体的是醌。在比较高等的植物叶绿体，也会产生相似的醌。然而就像下面要讨论的，水作为开始的弱电子供体。这也是植物光合作用产生氧气的原因。

非循环光合磷酸化产生 NADPH 和 ATP

植物中的光合作用和蓝细菌直接通过一种被称为**非循环的光合磷酸化**的两步途径产生 ATP 和 NADPH。因为两个光合系统（光合系统Ⅰ和光合系统Ⅱ）连续作用激活一个电子，这个电子可以通过各种途径由水传递到 NADPH。当高能电子通过偶联的光合体系产生

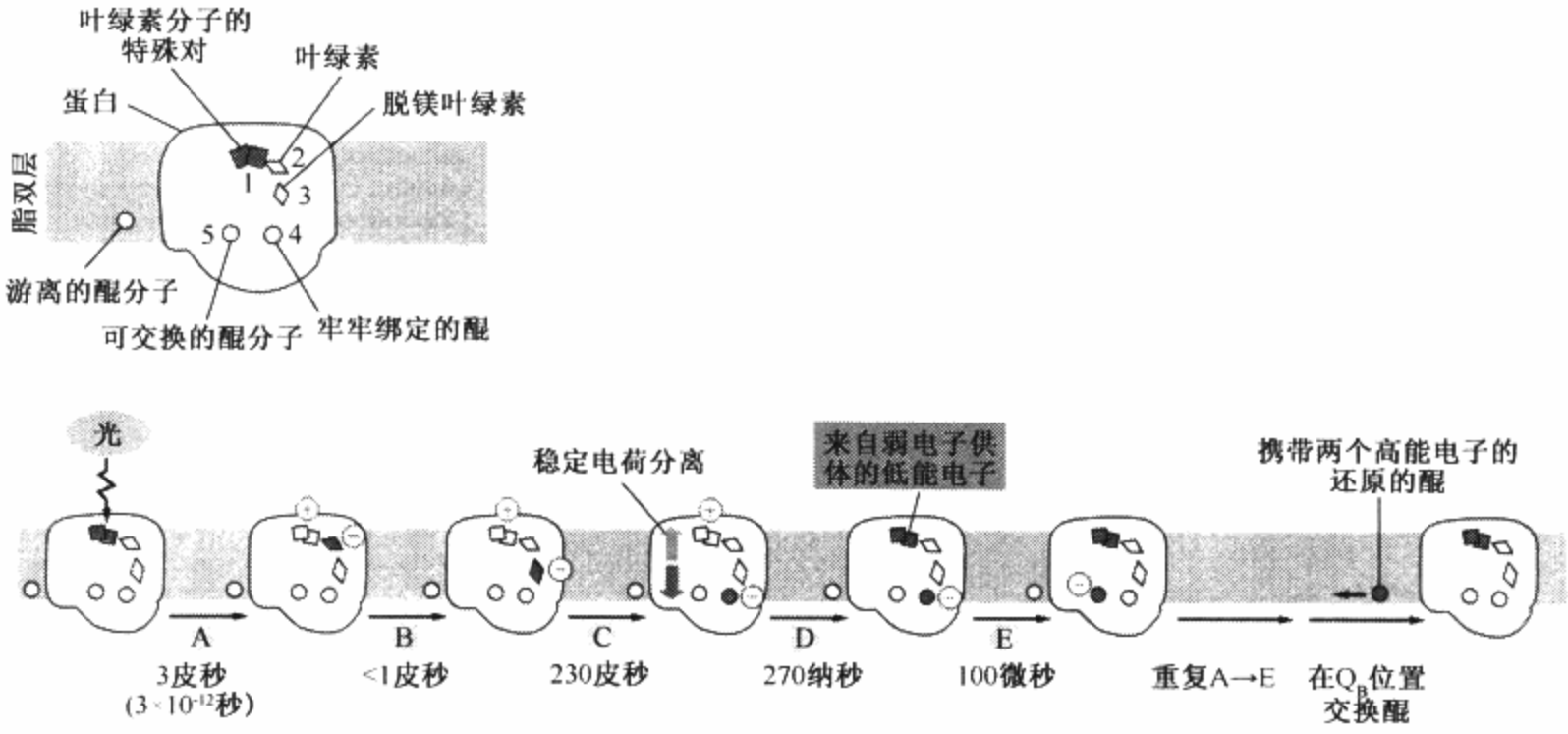


图 14-45　发生在紫细菌光化学反应中心的电子转移

一系列相似的反应发生在进化上相关的植物的光系统Ⅱ中。左上角的定位图指出那些带电子的分子，即图 14-44 那些，再加上一个可交换的醌（Q_B）和一个在脂双层分子中自由移动的醌（Q）。电子受体 1～5 是一个特殊位置的边界，位于一个 596 个氨基酸的转膜蛋白，有两个独立亚基（图 10-38）。一个高能电子，被光量子激活后，由一个色素分子传到另一个色素分子，并快速产生电荷分离，见下面 A～C 步骤，其中携带电子的色素分子为红色。然后步骤 D、E 逐渐发生。第 2 个光量子产生第 2 个电子重复此步骤，然后，可交换的醌被释放到脂双层中。这个醌迅速吸收 2 个电子而释放电荷（图 14-24）

NADPH，一部分能量用于 ATP 合成。

光合体系的第一步由于历史原因被称为光合体系Ⅱ，有独特的从水中分离电子的能力。2 个水分子中的氧连接在一种尚未了解的水裂解酶中的一簇锰原子上。这种酶可以使电子一次一个地从水中移下来，是为了补充反应中心叶绿素分子由于光造成的电子缺失。一旦 4 个电子从 2 个水分子中移除（需要 4 个光量子），1 个氧分子被释放。这样光系统Ⅱ催化了反应 $2H_2O+4$ 光子$\rightarrow 4H^+ + 4e^- + O_2$。当我们讨论线粒体中由氧产水的电子传递链，这个装置确保了没有部分氧化的水分子（危险的、高度反应的氧自由基）释放。本质上地球大气中所有的氧气都是由这种途径产生的。

光系统Ⅱ反应中心的核心类似于刚刚描述的细菌反应中心，同样产生很强的电子原料物质，以还原性醌分子的形式溶解于细胞膜的脂质双分子层中。醌分子将电子传递给氢离子泵，即细胞色素 b-f 复合体，类似于线粒体中的呼吸链中的细胞色素 b-c 复合体。细胞色素 b-f 复合体把氢离子通过类囊体膜泵入膜内（或在蓝细菌中由质膜泵出膜外），产生的电化学梯度通过 ATP 合酶推动 ATP 的合成（图 14-46）。

电子传递链的最终受体是第二步光合系统，光系统Ⅰ，接受一个电子补充叶绿素分子反应中心由于光造成的电子缺失。每个进入光系统Ⅰ的电子最终变为高能水平，允许它经过铁氧化还原蛋白中的硫化铁中心，然后进入 NADP，产生 NADPH（图 14-47）。

刚刚讨论的光合作用方式被称为 Z 方式，通过两个电子激活步骤，每个光系统催化一步，一个电子由水中传递给 NADPH，水在正常状态下可以紧紧抓住本身的电子（还原能＝＋820mV），NADPH 正常状态下与电子结合不牢固（还原能＝－320mV）。单个光子没有足够的能量激活一个电子由光系统Ⅱ的底部到光系统Ⅰ的顶部，这是电子有效地从水转换到 NADP 能量转化所必需的。这两个独立的连续的光系统的作用是使两个光子的能量可被利

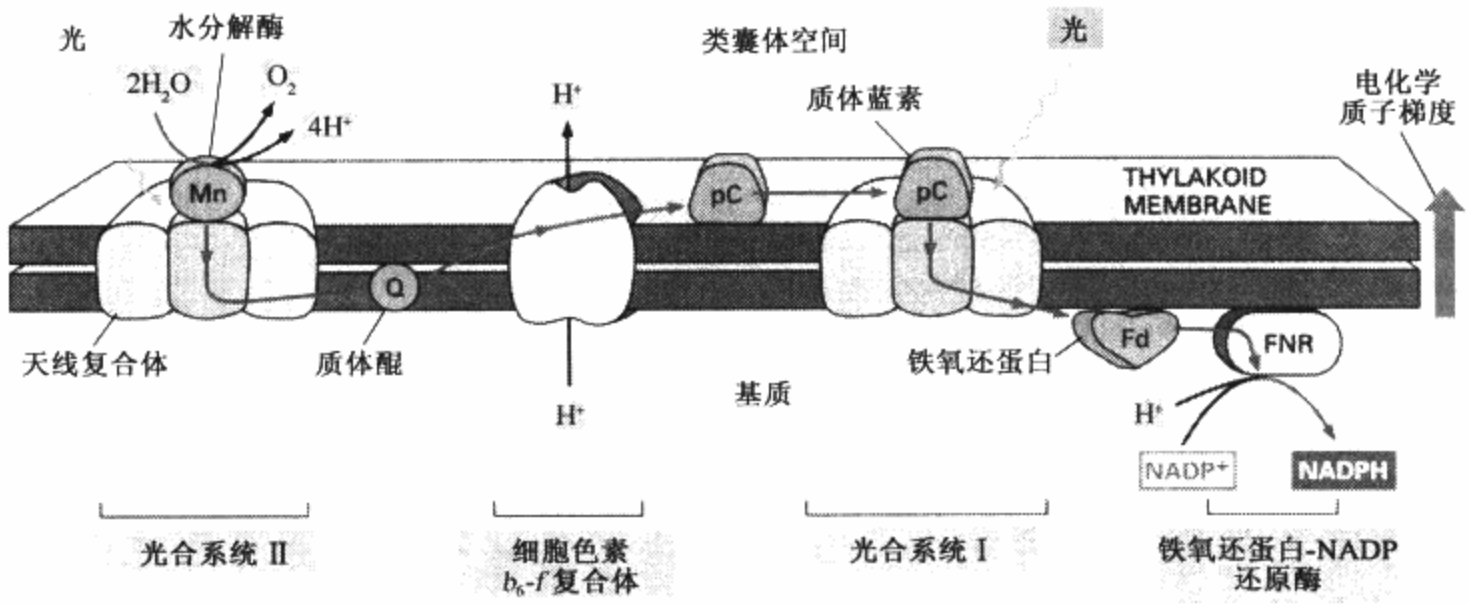


图 14-46　类囊体膜上光合过程中的电子流动

链上的可动电子受体为质体醌（精密地组装线粒体的泛醌）、质体蓝素（一个小分子质量的 Cu 结合蛋白）和铁氧环蛋白（含铁硫中心的小分子蛋白）。b_6f 复合体类似于线粒体的 b-c1 复合体和细菌的 b-c 复合体（图 14-71）；这三种复合物都从醌类物质中捕获电子并将质子泵出质膜。水氧化的过程中产生 H^+ 释放到类囊体腔中，形成 H^+ 化学电位梯度（这个电位梯度能够促使 ATP 合酶合成 ATP），并在基质中形成 NADPH 的过程中消耗

用。另外，剩下足够的能量连接在两个光系统的的电子传递链可以运输 H 通过类囊体膜（或蓝细菌的质膜），ATP 合酶可以利用光能产生 ATP。

叶绿体可以通过循环光合磷酸化产生 ATP 而不产生 NADPH

在刚才讨论的非循环光合磷酸化途径中，高能量的电子使得光合体系Ⅱ产生 ATP 并传递到光合体系Ⅰ从而驱动 NADPH 的产生。从水到 $NADP^+$ 产生一分子 NADPH 的每对电子可产生略大于一分子的 ATP。但对于碳的固定每分子的 NADPH 需要 1.5mol 的 ATP。为了产生额外的 ATP 某些种类植物的叶绿体会把光合体系Ⅰ转变为循环模式，这样它就会产生 ATP 而不是 NADPH。在这个所谓的光合磷酸化的过程中，来自于光合体系Ⅰ的高能量电子被传递到细胞色素 b_6-f 复合体而不是传递到 $NADP^+$。从 b_6-f 复合体电子以低能量传回到光合体系Ⅰ。仅有的净结果是，除了一些光能转变为热外，氢离子被 b_6-f 复合体泵过类囊体膜当电子传递经过它的时候，因此提高了驱动 ATP 合成的电化学质子梯度。

总之，循环光合磷酸化只包括光合体系Ⅰ，并且它在不产生 NADPH 和氧气的情况下产生 ATP。循环和非循环电子流的相对活性可以被细胞调节，从而决定多少光能被转换为还原力（NADPH）多少被转换为高能磷酸键（ATP）。

光系统Ⅰ和光系统Ⅱ有相关结构，与细菌的光合体系相似

虽然涉及的蛋白质数量在真核生物中较多，细胞的基本代谢结构如 DNA 合成及呼吸作用基本上被证实在真核细胞与在细菌中是一样的。真核是由原核进化而来，在进化过程中一些附加的蛋白质被选择因为它们产生了高效率和（或）规则度，对细胞有利。

光系统提供了进化的实例，例如，光系统Ⅱ由 25 种以上不同的蛋白质亚基组成，在类囊体膜上形成一个 100 万 Da 的大集合体。真核光系统的原子结构由电子和 X 射线晶体学揭示。这项工作非常困难，因为联合体比较大且深入到脂双层内部。然而，如图 14-48 所示，

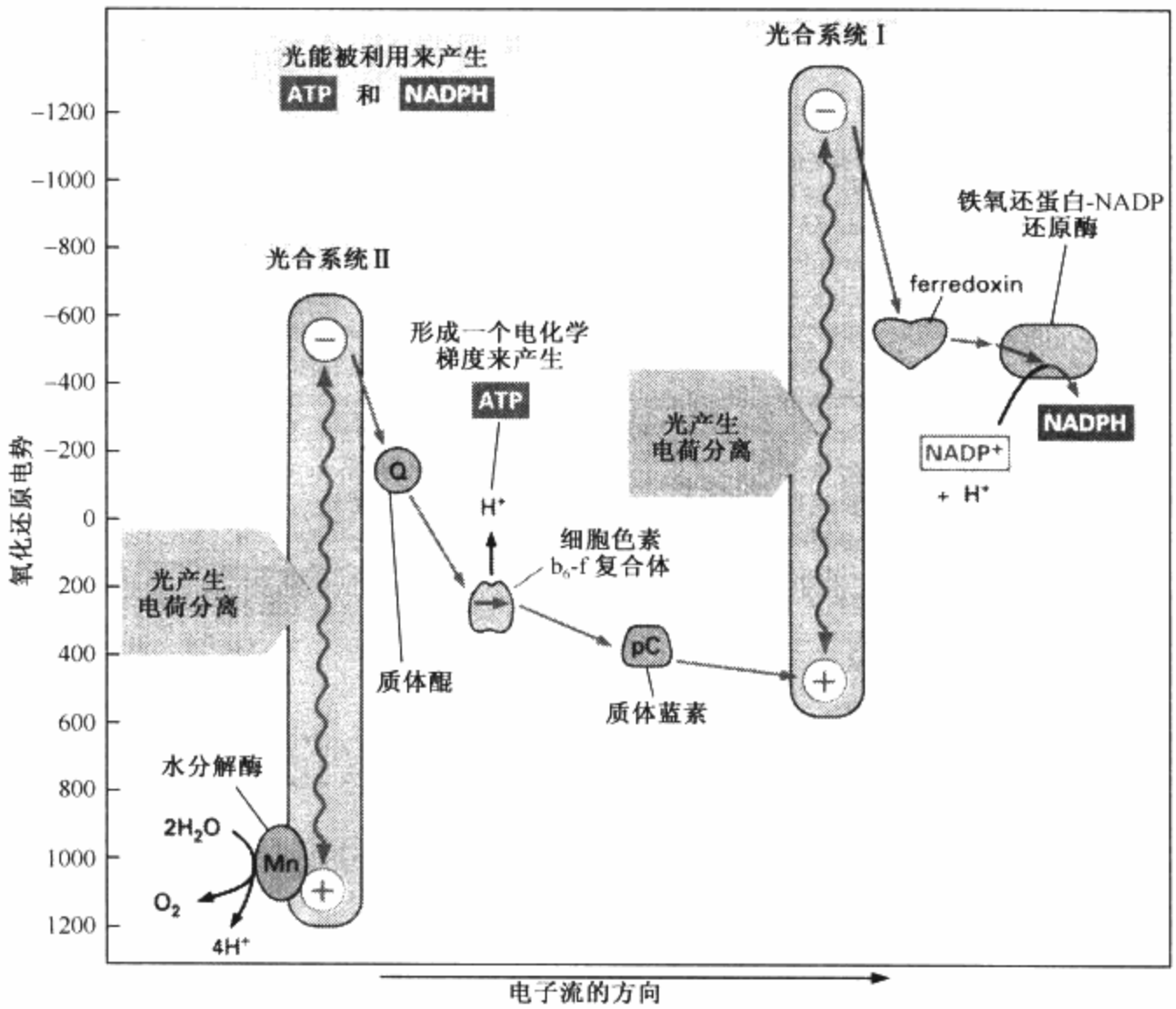


图 14-47　光合作用过程中氧化还原电势的变化

每个分子的氧还电势是由它在垂直轴中的位置所指示的。在光系统Ⅱ中，应激反应中心叶绿素有足够高的氧还电势通过成簇的 4 个锰原子从水中获得电子。光合系统Ⅱ在紫色细菌中紧密聚集在反应中心，从激活的叶绿素把电子通过电子传递链传送到光合系统Ⅰ。光合系统Ⅰ随后从激活的叶绿色通过紧密结合的一系列铁硫蛋白传递电子。净电子连续不断地通过两个光合系统从水传递到 $NADP^+$，并且产生 NADPH 和 ATP。ATP 由一种 ATP 合酶利用三个区域的 H^+ 活性所产生的电化学质子梯度所生成（图 14-46）。为了区别仅通过光合系统Ⅰ的循环方式产生 ATP，这种 Z 形途径产生 ATP 称作非周期性光合磷酸化

光系统Ⅰ和光系统Ⅱ的密切联系，以及紫细菌的光化反应中心已经由原子水平的分析清楚证明。

线粒体与叶绿体中的质子推动力是相同的

类囊体腔的存在使叶绿体被分为 3 个内层空间，而不是像线粒体一样有 2 个。然而在这 2 个细胞器中，H^+ 迁移的影响是相同的。如图 14-49 所示，在叶绿体中，H^+ 由基质（pH8）进入类囊体腔（pH 约为 5），造成 3～3.5 个 pH 单位的梯度。由此产生了跨类囊体膜的 200mV 的质子推动力，它推动了膜上的 ATP 合酶产生 ATP。这种力和跨线粒体内膜的力是一样的，但大部分是由 pH 梯度提供的，而不是像线粒体内，由膜电压产生。

像基质一样，线粒体 pH 大约是 8。这是 H^+ 由线粒体进入胞液（pH7），而非进入细胞器内腔造成的。这样，pH 梯度很小，大部分跨线粒体内膜的质子推动力是由膜电压产生的（图 14-13）。

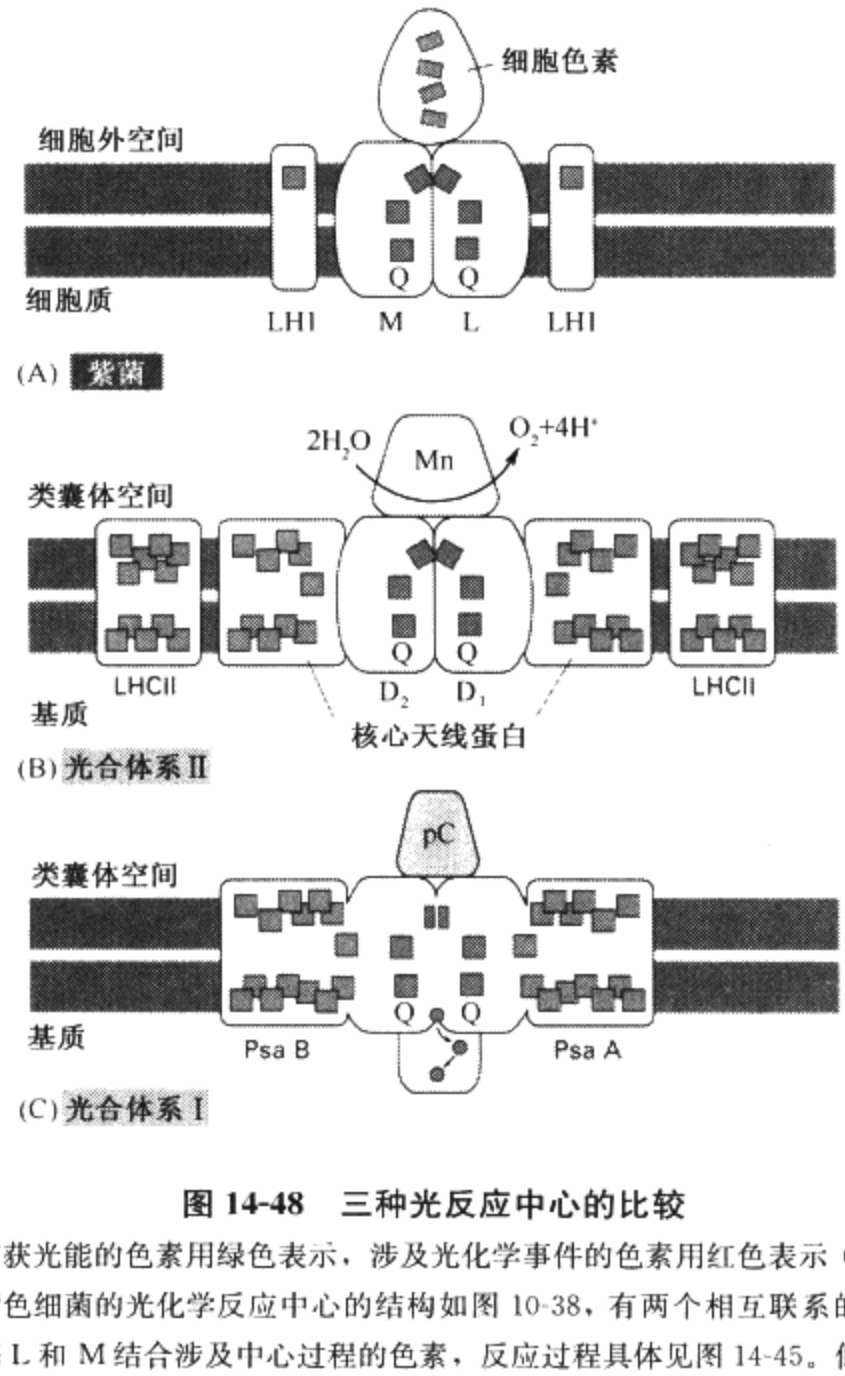


图 14-48　三种光反应中心的比较

捕获光能的色素用绿色表示，涉及光化学事件的色素用红色表示（A）紫色细菌的光化学反应中心的结构如图 10-38，有两个相互联系的亚基 L 和 M 结合涉及中心过程的色素，反应过程具体见图 14-45。低能电子通过细胞色素进入激发态色素，LH1 是一个涉及光能捕获的蛋白质-色素复合物。（B）光系统Ⅱ里有与（A）中 L 和 M 亚基同源的 D_1 和 D_2 蛋白，来自于水中的低能电子通过一个锰簇进入激发态色素。捕获光能的复合物 LHCII 将能量传递到核心天线蛋白。（C）光系统Ⅰ包含 Psa A 和 Psa B 蛋白，分别相当于光系统Ⅱ中 D_1 或 D_2 蛋白和核心天线分子的融合。低能电子通过松散结合的质体蓝素进入激发态色素。如图所示，在光系统Ⅰ中，高能电子从 1 个不能移动的醌（Q）传到 3 个铁硫中心（红色圆圈）。（由 K. Rhee，E. Morris，J. Barber，and W. Kühlbrandt，*Nature* 396：283～286，1998；W. Kühlbrandt，*Nature* 411：896～899，2001. 修改而来）

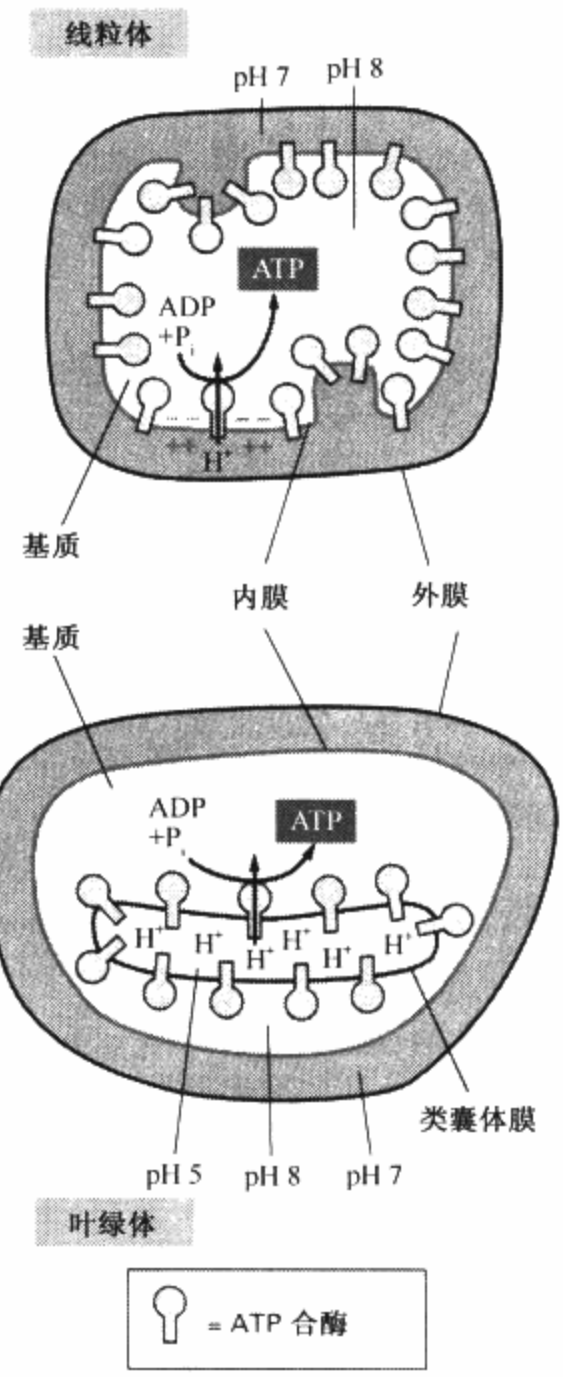


图 14-49　线粒体和叶绿体中 ATP 合酶的定位和 H^+ 流的比较

那些具有相同 pH 的部位用相同的颜色表示。穿过内囊体膜的质子动力完全是由 pH 梯度造成的。膜对 Mg^{2+} 和 Cl^- 的高度渗透性可以通过这些离子的流动抵消大部分的膜电势。线粒体需要巨大的膜电势可能是因为基质的 pH 达到 10 才能够产生足够的质子动力，而此时线粒体无法耐受这种 pH

不论线粒体还是叶绿体，ATP 合酶的催化部位 pH 为 8，存在于大的充满可溶性酶的细胞器间隔中（矩阵或基质），因此，所有细胞器的 ATP 均在这里产生（图 14-49）。

叶绿体内膜的载体蛋白控制代谢物与胞质的交换

如果叶绿体是孤立的，内膜不接触，可以认为膜是选择透过的，反映了特殊蛋白质载体的存在。最显著的，很多三磷酸甘油醛通过一种高效的反端口系统利用叶绿体基质上二氧化碳固定产生的，该系统用一输入通量无机磷酸盐交换三碳糖。

正常情况下三磷酸甘油醛供给胞液充足的碳水化合物来源，被细胞用作其他生长物质合成的出发点，即包括胞外蔗糖的产生。这个分子提供的不只这些。一旦三磷酸甘油醛到达胞液，就很容易转换成 1,3 磷酸甘油酸盐然后变为 3-磷酸甘油酸盐（通过部分糖酵解途径），产生一分子 ATP 和一个 NADPH（一个相似的两步反应，但是过程相反，在碳固定循环中形成三磷酸甘油醛；见图 14-39）。结果，三磷酸甘油醛从叶绿体中的排出不仅为其他细胞提供主要的固定碳的来源，而且提供了叶绿体外新陈代谢所需的还原力和 ATP。

叶绿体也执行其他的重要生命物质的合成

除光合作用，叶绿体还执行很多重要生命物质的合成。例如，细胞中所有的脂肪酸和一部分氨基酸都是由叶绿体及基质中的酶合成的。叶绿体中光激活电子的还原力推动亚硝酸盐还原为氨也是一样的，氨为植物提供了合成氨基酸和核苷酸所需的氮。因此，叶绿体对植物和藻类在代谢中的重要作用不仅限于光合作用。

小结

叶绿体和光合细菌通过光合系统捕获电子获得高能电子，捕获的电子当太阳光被叶绿体分子吸收时变得活跃。光合体系是由天线复合体组成的，这一复合体使能量传到光化学反应中心。在此中心，蛋白质和色素的规则复合体使电子携带体捕获叶绿体中活泼电子的能量。最容易理解的是紫色细菌的光化学反应中心，它只包含一个光学系统。相反，在青色细菌中有两种截然不同的光学系统。这两者是串联在一起的，它们把电子从水转移到 $NADP^+$ 形成 NADPH，同时形成横跨膜的电化学质子梯度。在这些相连的光学系统中，通过从特定位置的水分子移除 4 个低能电子的同时产生 O_2。

与线粒体比较，叶绿体有另外的内膜（类囊体）和 1/3 的空腔（类囊体腔）。所有的电子转移过程都发生在类囊体膜上：产生 ATP，H^+ 泵至类囊体腔，H^+ 通过 ATP 合酶逆流。然后在叶绿体基质产生 ATP。产生的 ATP 与 NADPH 一起用于光合作用中，用于大量生物合成，包括所有产生 CO_2 的重要的碳循环。连同一些其他的重要叶绿体产物，一碳水化合物被输出到细胞外液中，在细胞外液中 3-磷酸甘油醛为其他细胞提供有机碳、ATP 和还原力。

线粒体和质体的遗传系统

大家公认线粒体和质体起源于被有核细胞内吞的细菌。作为这一过去进化的证明，不同类型的细胞器官都含有它们自己的基因组和生物合成机制来合成 RNA 和细胞器蛋白质。线粒体和质体从来不是随便的制造出来的，而是随着已有的线粒体和质体的生长分化出现的。平均起来，每一个细胞在每一代必须加倍，然后分配到子细胞中。即使未分裂的细胞也必须补充作为细胞连续周转一部分的已退化的细胞成分，或者随着需要的增加产生额外的细胞。细胞生长和增殖的过程是复杂的，因为线粒体和质体的蛋白质在两个地方编码：核基因组和在它们自己细胞分离的基因组（图 14-50）。

在第 12 章中，我们讨论了怎样选择胞液中的蛋白质和脂质进入线粒体和叶绿体的问题。这里我们讨论细胞基因组是怎样保持的和它对细胞生源论的贡献。

线粒体和叶绿体含有完整的遗传体系

线粒体和质体的生物合成需要两个独立的遗传体系。大部分线粒体和叶绿体中的蛋白质

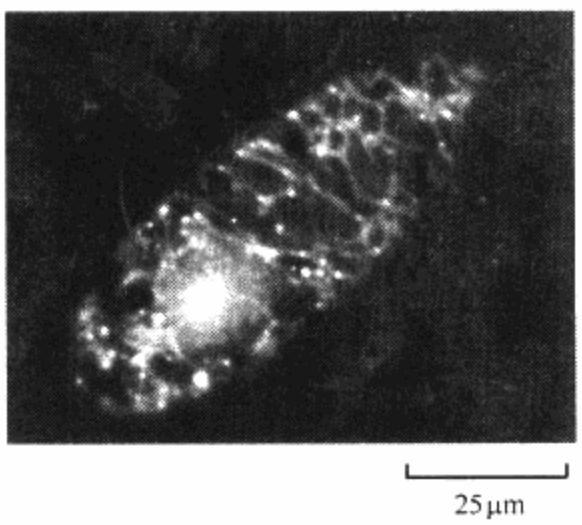


图 14-50　线粒体和有荧光染料的核 DNA

这一显微图显示了眼虫属股膜肌细胞中的核基因组（红的）和成倍增加的小线粒体基因组（黄点）的分配。被溴乙非啶染色的 DNA，能发射红光的荧光染料。另外，用绿色荧光染料染色的线粒体内部空间展示了线粒体作为一个分支机构网扩充到胞液中。绿色矩阵和红色 DNA 的重叠使线粒体基因组显示出黄色（摘自 Y. Hayashi and K. Ueda, *J. Cell Sci.* 93: 565～570, 1989. ©The Company of Biologists）

是被专门的在核 DNA 中的基因编码的。被胞液中的核糖体合成后这些蛋白质从胞液中进入到细胞内。其他的细胞蛋白质被细胞 DNA 编码，在细胞内核糖体合成，利用 mRNA 的延长指定它们氨基酸的顺序（图 14-51）。在胞液和细胞内蛋白质的运输好像是单向的，因为还没发现从线粒体和叶绿体运到胞液中的蛋白质。也有例外发生，当一个细胞要经历细胞凋亡时。蛋白质从线粒体内膜释放到线粒体外是一个信号通路的一部分，它可以触发细胞程序死亡（讨论见第 17 章）。

细胞器 DNA 的转录、蛋白质合成和 DNA 复制（图 14-52）在基因组所在的位置进行：在线粒体的矩阵（matrix）中和叶绿体的基质中。尽管调节这些遗传过程的蛋白质对细胞器来说是独特的，但它们多数是由核基因组编码的。细胞器的蛋白质合成机器更像是细菌而不是真核生物。在叶绿体中这种类似更明显。例如，叶绿体的核糖体无论是结构还是对抗生素（如氯霉素、链霉素、赤霉素、四环素）的敏感性方面都与大肠杆菌的核糖体很相像。另外，叶绿体蛋白质合成由 *N*-甲基

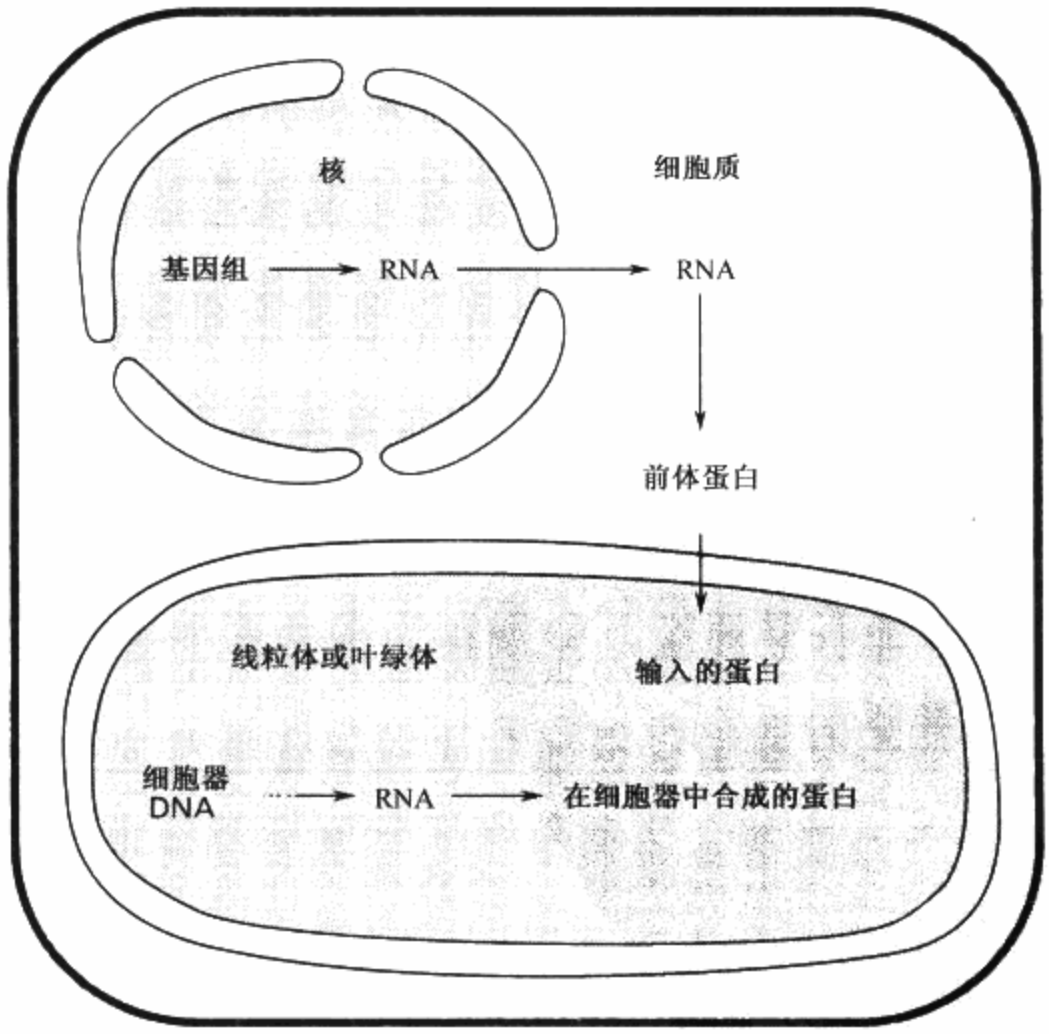


图 14-51　线粒体和叶绿体蛋白质由两套遗传系统产生

大多数线粒体和叶绿体蛋白质由核基因编码并由胞质中运到细胞器中

甲硫氨酸开始，这与细菌的蛋白质合成相同，而在真核细胞胞液中蛋白质合成却是从甲硫氨酸开始。尽管线粒体遗传系统与细菌的相似程度不及叶绿体与之的相似程度高，但是，线粒体的核糖体也对抗生素敏感，其蛋白质合成也是从 *N*-甲基甲硫氨酸开始的。

细胞器的生长和分裂决定了细胞中线粒体和质体的数量

在活细胞中线粒体和质体相对较大，可通过光学显微镜进行观察。例如，在细胞中，通过将绿色荧光蛋白连接到线粒体蛋白上来得到一种遗传工程融合蛋白，可以通过观察这种蛋白质来观察线粒体。或者因为存在跨膜的电化学梯度，可用专门标记线粒体的荧光染料来培养细胞。通过这些图像，可以看到活细胞中的线粒体频繁的分裂、融合以及改变形状(图 14-53)，就像先前提到的那样。这些细胞器的分离和融合是非常复杂的过程，因为这些细胞器具有双层膜，单独隔离的线粒体必须保持完整性（图 14-54）。

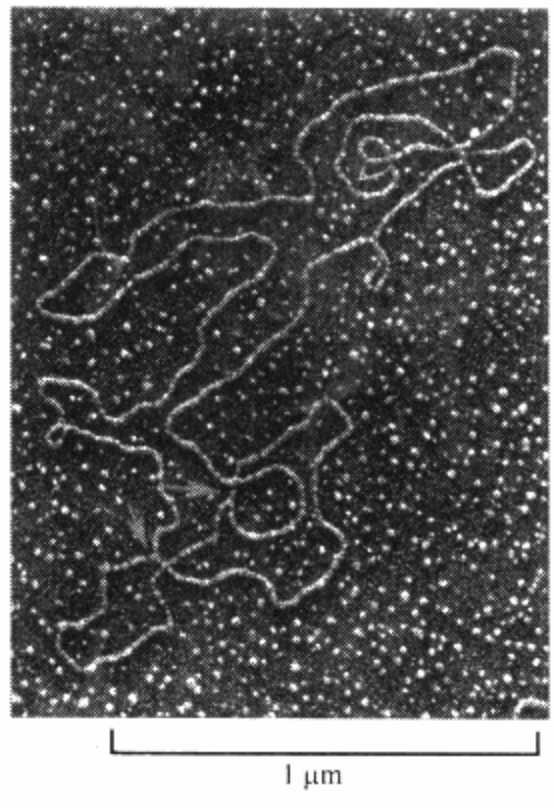


图 14-52　动物线粒体 DNA 分子复制的电镜图

环形 DNA 只有在红色箭头标示的地方复制，新合成的 DNA 用黄色表示（经 David A. Clayton. 许可）

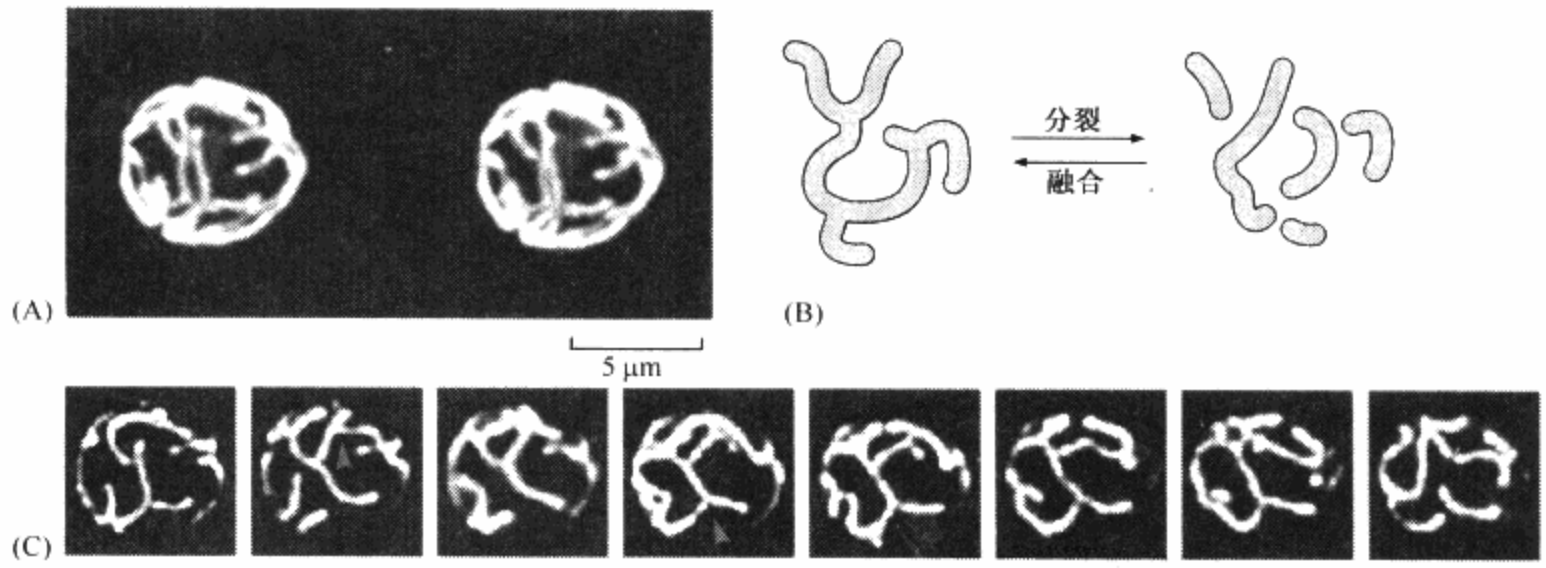


图 14-53　动态的线粒体内质网

（A）在酵母细胞中，线粒体在质膜下形成连续的网状结构。（B）线粒体分裂和融合的平衡决定了线粒体在不同细胞类型中的分布差异。（C）时间延迟荧光显微镜显示的酵母细胞中的线粒体的结构，除了形态变化外，这些网状结构在不断地发生分裂和融合（红色箭头）。每隔 3min 照一次相。（A）和（C）摘自 J. Nunnari et al.，*Mol. Biol.* Cell 8：1233～1242，1997，经 the American Society for Cell Biology 许可）

线粒体复制的数目和形状随着细胞的类型以及同一细胞类型的不同生理条件而改变，变化范围从多种球形细胞器到单一的有分支结构的细胞器。这些变化通过线粒体分裂和融合的相对速率来控制，这是由附着在线粒体膜表面的 GTP 辅酶来控制。这些线粒体形态的差异性和分类对于细胞的差异性和功能是很重要的。例如，果蝇的突变削弱了线粒体的融合，从而导致线粒体破碎，阻碍了精子的生长发育而导致不育。

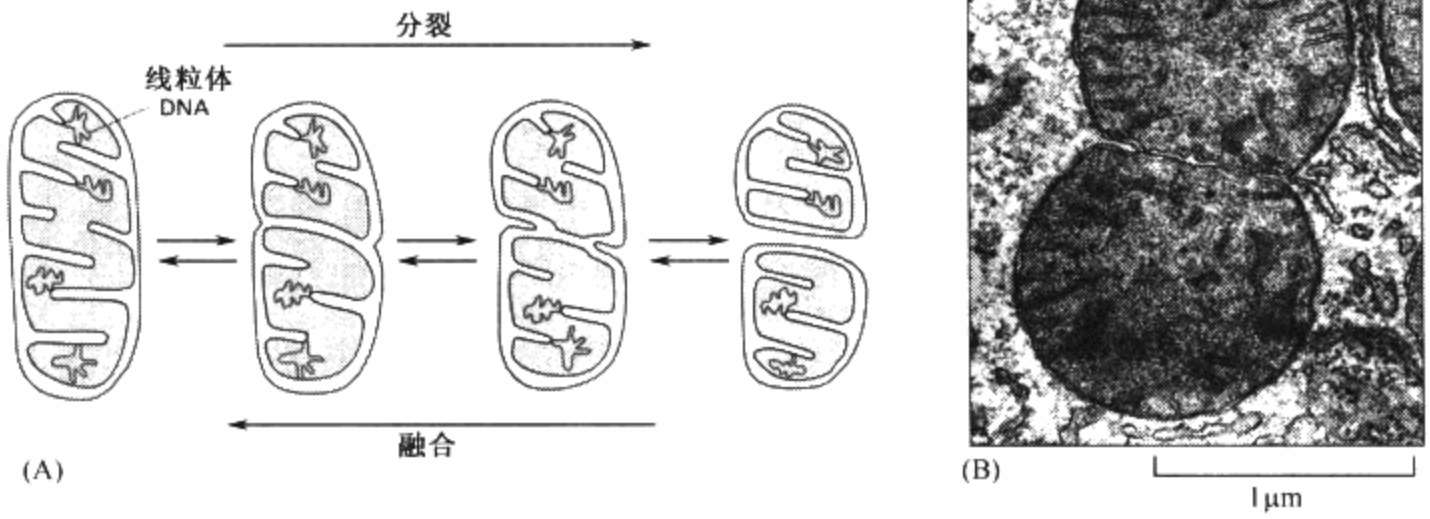


图 14-54　线粒体的分裂和融合

这些过程涉及外膜和内膜。（A）在分裂和融合的过程中，基质和内膜空间是保持不变的，融合只发生在外膜和内膜上。线粒体分裂过程类似于细菌细胞的分裂（讨论见第 18 章）。这里显示的融合过程是根据（B）中的静态图推断出来的。（B）肝细胞中一个分裂的线粒体的电镜图（经 Daniel S. 许可）

在细胞内膜空间有许多线粒体和质体基因组的拷贝。在一个细胞器中究竟有多少个这样的拷贝要取决于细胞器的分裂水平。很多时候，一个区隔（表 14-2）中有许多基因组。在多数细胞中，细胞器 DNA 的复制并不局限于细胞周期的 S 期，而此时，细胞核 DNA 进行复制。在细胞分裂的整个过程中细胞器 DNA 都可能复制，在单个的细胞器 DNA 分子的复制看

表 14-2　许多细胞和组织中的线粒体和叶绿体 DNA 的相对数量

细胞器	组织或细胞类型	每个细胞器中的 DNA 分子数	每个细胞中的细胞器数目	细胞器 DNA 占整个细胞 DNA 的比例/%
线粒体				
大鼠	肝	5～10	1000	1
酵母	营养组织	2～50	1～50	15
青蛙	卵母细胞	5～10	10^7	99
叶绿体				
厚垣孢子	营养组织	80	1	7
玉米	叶	20～40	20～40	15

酵母中每个细胞中的线粒体数目的较大变化是线粒体分裂和融合的结果

起来像是随机的，在一个特定的细胞中，有些细胞器 DNA 复制不止一次，而有些却一次也不复制。尽管如此，在恒定的条件下，这个复制过程还是有所限制的，使在一个细胞周期中所有的细胞器 DNA 分子加倍，从而保证所有的细胞类型都维持相对恒定的细胞器 DNA 数量。当条件改变时每个细胞中的细胞器的总数会根据需要发生改变。据观测，当骨骼肌被长时间刺激收缩时，线粒体会成 5～10 倍的增长。

在特殊情况下细胞器分裂可以由细胞确切控制。在某些只包括一个或者几个叶绿体的藻类中，细胞器分裂在细胞分裂前进行，细胞器的分裂面与将来细胞分裂面是同一的。

线粒体和叶绿体基因组的多样性

分布在细胞器的基质和类囊体中多拷贝的线粒体和叶绿体 DNA 通常聚集在称为核体的地方。核体和腺体内膜相连。尽管现在还不知道 DNA 是怎样被包装的，但是 DNA 结构应该更类似于细菌的 DNA 而不是真核生物的，因为细菌的 DNA 没有组蛋白。

线粒体和叶绿体 DNA 的大小与病毒的相当。叶绿体 DNA 分子从疟原虫的小于 6000 核苷酸对到大于300 000不等（图 14-55）。大多数线粒体 DNA 都像细菌的基因组一样是一个环形的分子，但线形的也是有的。哺乳动物的线粒体 DNA 是一个大约16 500碱基对的环形分子（小于核基因组的 0.001%）。小到果蝇，大到海豚的各种动物，它们的线粒体基因组的大小差不多。陆生植物的叶绿体基因组的大小为 7000～20 000，至今所有发现的基因组都是环形的。

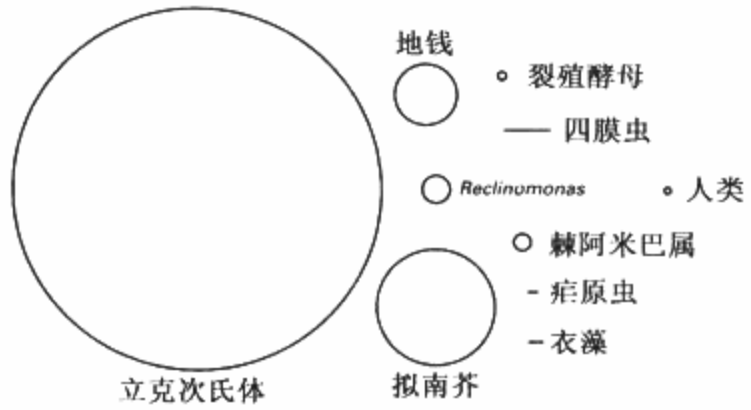


图 14-55　大小不等的线粒体基因组

目前已知的线粒体 DNA 有 200 多种。立克次氏体的基因组是最大的环状 DNA，它是一种小的病原菌，其基因组大小和线粒体基因组最接近。线粒体基因组大小和其编码的蛋白质多少并不呈正比例关系：人类的线粒体 DNA 编码 13 种蛋白质，拟南芥的线粒体基因组是人类的 22 倍大，但其编码的蛋白质只有 32 种，是人类的 2.5 倍。在拟南芥、地钱的线粒体基因组发现的额外的 DNA 大都是垃圾 DNA。*Reclinomonas americana* 的线粒体 DNA 编码 97 个基因，是目前已知的编码最多的基因组（摘自 M. W. Gray et al.，*Science* 283：1476～1481，1999）

哺乳动物的线粒体 DNA 占整个基因组的不到 1%。其他细胞中，如高等植物的叶或者是两栖动物的卵母细胞中，线粒体和叶绿体 DNA 的比例可能大一些（图 14-2），合成的 RNA 和蛋白质会多一些。

线粒体和叶绿体可能都是从内共生细菌进化来的

线粒体和叶绿体遗传系统所具有的原核生物的特征，在叶绿体中尤为明显，这表明它们可能是 10 亿年前从内吞的细菌进化而来的。根据这种内共生假说，真核细胞最初是一种没有线粒体和叶绿体的自养生物，然后与细菌建立起了一种稳定的内共生关系，细菌的氧化磷酸化系统为真核细胞所利用（图 14-56）。这种内吞然后导致进化出线粒体的时间只有在空气中的氧气达到一定数量时才会发生，大约是在 1.5×10^9 年前，植物和动物分化以前的事（图 14-69）。

植物和藻类的叶绿体的起源要晚一些，是内吞的需氧光合细菌进化来的。怎们解释叶绿体不同的色素特征呢？目前认为至少有三种不同的内吞事件独立发生。

编码大多数线粒体和叶绿体蛋白的基因位于细胞核中，然而，在真核生物进化的过程中一定有广泛细胞器基因到核基因的转移。相反，目前细胞器基因组的稳定性表明成功的转移也是很少发生的。这是可以预料的，因为从细胞器转移到核中的基因需要成为一个有功能的基因，它必须适应核的环境以及胞质的转录和翻译的需要，此外还需要一个胞质中合成后正确运到细胞器中的信号序列。

基因转移假说解释了为什么许多核基因类似细菌基因编码线粒体和叶绿体蛋白质。鸡线粒体超氧化物歧化酶和细菌的更加相似而不是真核生物的。DNA 转移的更进一步的证据是一些核基因组中的非编码序列似乎是起源于线粒体的，它们可能是真核进去的垃圾 DNA。

基因转移似乎是一个渐进的过程。当对编码不同数量蛋白质的线粒体基因组进行比较时

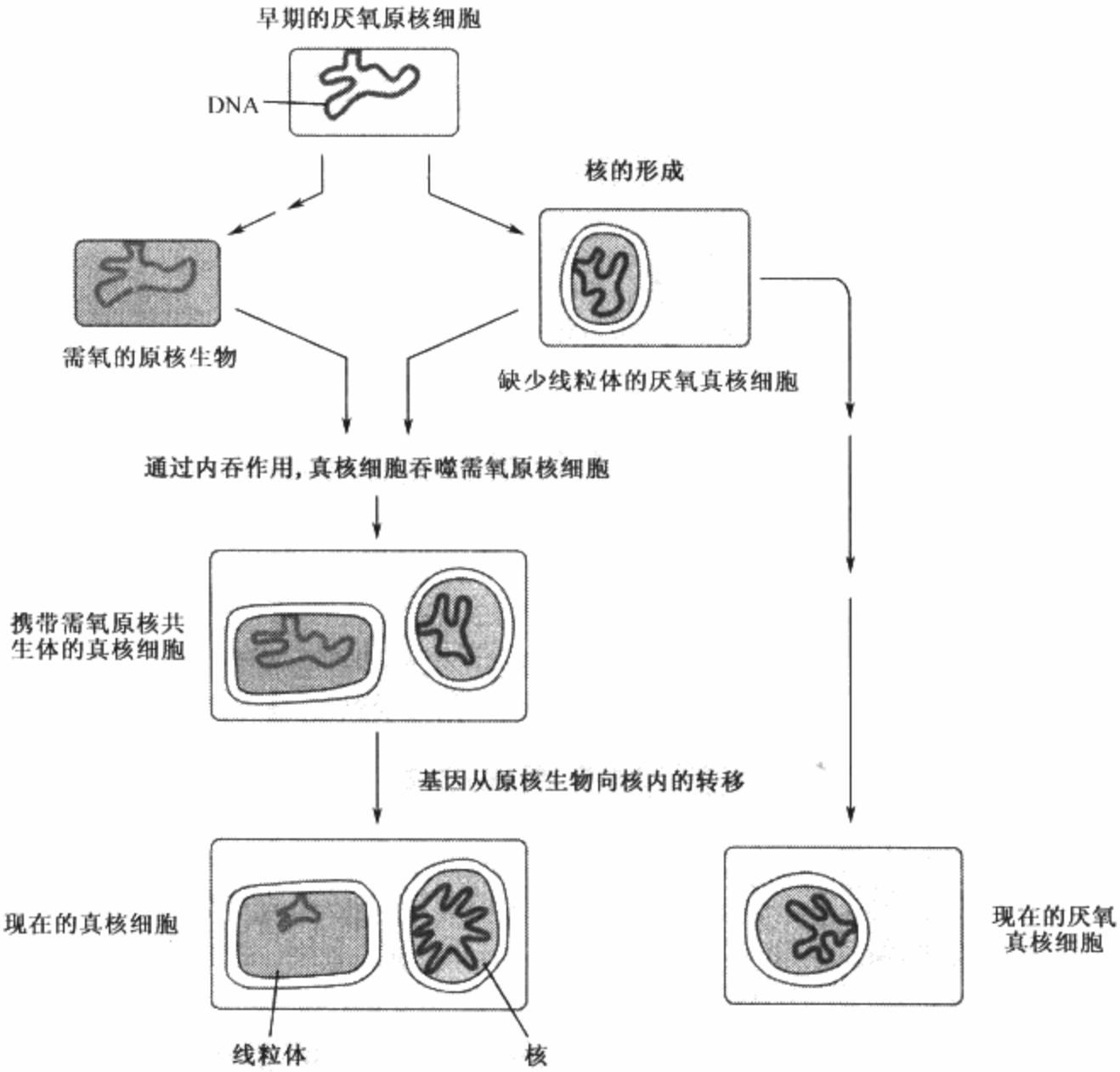


图 14-56　线粒体起源的可能路径

Microsporidia 和 *Giardia* 是两种目前已知的自养单细胞真核生物，它们没有线粒体。因为 rRNA 序列分析表明它们与其他真核生物在进化上相距甚远，因此推测它们的祖先也是自养的，是类似于线粒体祖先的真核生物

发现了功能基因的冗余现象（图 14-57）。例如，最小的也可能同时是进化上最高等的线粒体基因组织编码几个电子传递过程中的几个内膜蛋白和核糖体 RNA 以及 tRNA。与动物和酵母的基因组比较，最复杂的线粒体基因组有大量的冗余基因存在。这些冗余基因中有许多编码线粒体遗传系统的组分，如 RNA 聚合酶亚基和核糖体蛋白；相反，这些基因在核基因组中存在的话就会减少线粒体基因组的大小。

什么类型的细菌进化成了线粒体呢？通过序列比较发现，线粒体似乎起源于一种特殊的紫色光合细菌，它们失去了光合能力，只保留了呼吸链。然而，现在还不能确定所有的线粒体都起源于相同的内共生事件。

线粒体基因组的一些特点

在早期研究 DNA 序列的课题中人类的相对小的线粒体基因组使其成为被关注的对象，在 1981 年，全序列16 569个核苷酸得到确认。与已知的线粒体 tRNA 序列及部分线粒体DNA 编码的氨基酸序列相比较，所有人类的线粒体基因均被定位在环形 DNA 分子上（图 14-58）。

通过与细胞核、叶绿体、细菌基因组相比较，人的线粒体基因组有以下几个特征：

1. 密集的基因包装。与其他基因组不同，几乎所有的核苷酸都像是一个编码序列的成员，

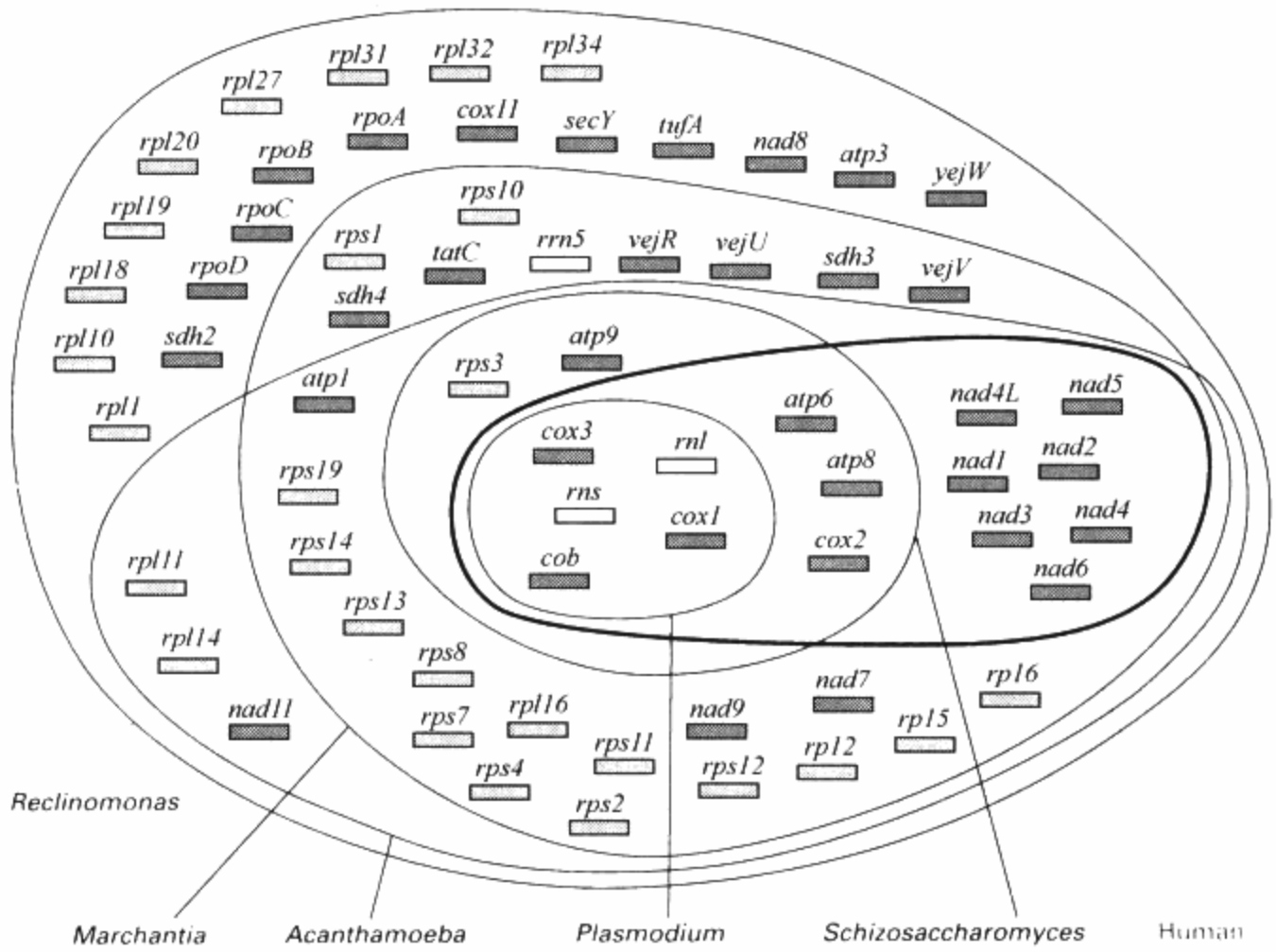


图 14-57　线粒体基因组的组成

复杂性小的线粒体编码的蛋白质和 rRNA 是由大的线粒体基因组编码的。在所有的线粒体中都存在的 5 个基因编码 rRNA（*rns* 和 *rnl*）、细胞色素 b（*cob*）和 2 个细胞色素氧化酶亚基（*cox*1 和 *cox*3）。

（摘自 M. W. Gray et al.，*Science* 283：1476～1481，1999）

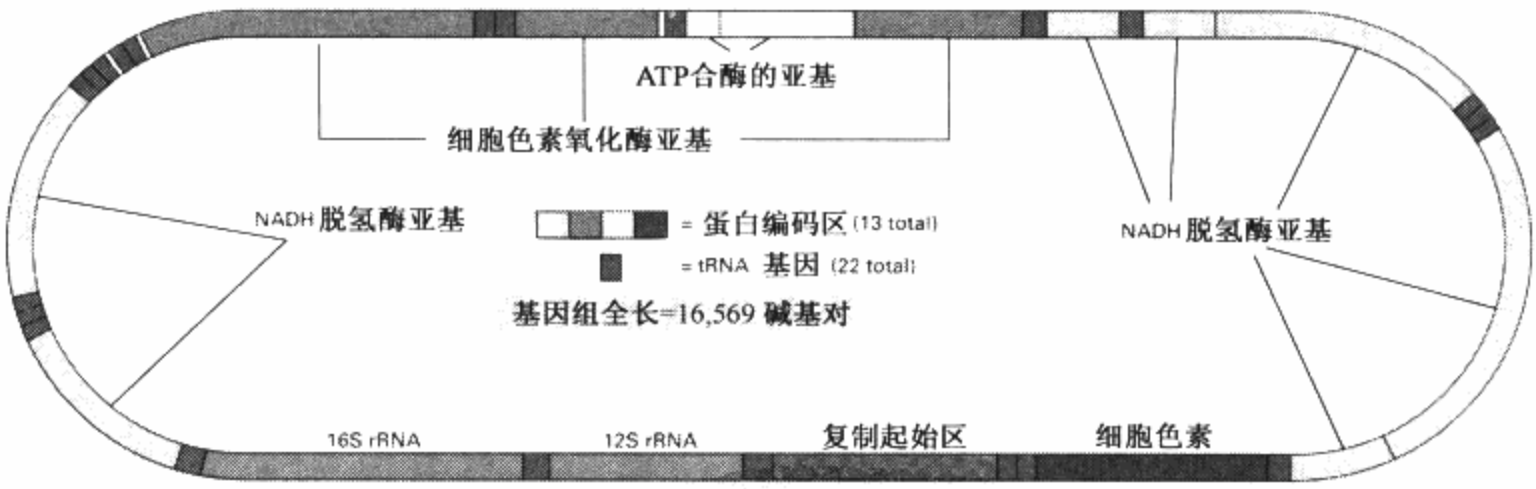


图 14-58　人类线粒体基因组的组织

人类线粒体基因组包含 2 个 rRNA、22 个 tRNA 和 13 个编码蛋白质的 mRNA。许多动物的线粒体基因组也已经被测序，大多数的动物线粒体 DNA 编码的基因和人类的是相同的，从哺乳动物到鱼类的基因顺序也是相同的

或者是对应一个蛋白质或者是对应一个 rRNA 或 tRNA。由于这些编码序列的相互缠绕，几乎没有为调节 DNA 序列留有空间。

2. 松弛编码的好处。虽然在胞液和叶绿体中有 30 或更多种的 tRNA 特异的氨基酸，但线粒体合成只需要 22 种。通常的正义-负义双链的法则在线粒体中是相当松懈的，许多tRNA分子识别第三个位置核苷酸的任意 4 种氨基酸，这种“3 选 2”的组合使得在少量的tRNA分子的存在情况下就可以进行蛋白质合成。

3. 不同的遗传基因编码。令人惊讶的是，将线粒体基因序列与其对应的氨基酸序列相比较显示出其遗传编码的差异：64 个密码子中有 4 个与其他基因组中的密码子所代表的含义有区别。

通过观察发现几乎所有组织中的遗传密码均相同，这提示了所有的细胞均由一个共同的祖先进化而来。那么对于许多线粒体遗传密码的差异是否有一个解释呢？从线粒体的遗传密码随着不同的组织而不同可以给出些提示。在拥有最多基因的线粒体中（图 14-57），遗传密码与细胞核的标准的遗传密码没有差别。然而终止密码子 UGA，在哺乳动物、真菌，即无脊椎动物的线粒体中被读作色氨酸。通常的精氨酸的密码子 AGG 在哺乳动物的线粒体中被作为终止子，在果蝇线粒体中编码丝氨酸（表 14-3）。这种差异显示出了线粒体遗传密码可以随机调换的存在。由线粒体基因组编码少量的蛋白质，然而在大的基因组中这些改变将改变许多蛋白质的功能从而破坏细胞。

表 14-3　通用密码和线粒体遗传密码的差异

		线粒体密码			
密码子	通用密码	哺乳动物	无脊椎动物	酵母	植物
UGA	终止密码子	*Trp*	*Trp*	*Trp*	终止密码子
AUA	Ile	*Met*	*Met*	*Met*	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	*Thr*	Leu
AGA AGG	Arg	终止密码子	*Ser*	Arg	Arg

注：斜体和阴影表示的是不同于通用密码的密码子。

动物线粒体包括已知的最简单的遗传系统

不同组织中的 DNA 序列比较显示在进化中线粒体核苷酸的突变率比核基因组的大 10 倍，这可能归结为线粒体 DNA 复制过程中的低保真，DNA 修复的低效性或两者都有。因为在动物细胞中只有16 500个核苷酸需要复制，表达为蛋白质，在 DNA 复制（包括 DNA 修复的存在），RNA 聚合酶转录，线粒体核糖体翻译为蛋白质，每步的错配率（在没有伤害到小的基因产物的情况下）均比较高。这就可以解释为什么在细胞中完成这些过程的机制在线粒体中要简单得多。线粒体中只含有 22 种 tRNA 和少量的 rRNA（少于大肠杆菌数量的 2/3），这会减少蛋白质合成的保真度，但这种假说还没有得到充分的检测。

线粒体基因进化的相对速率是很高的，这就使线粒体 DNA 序列在进化分析上显得尤为重要，有助于阐明相对较晚的进化事件的年代，如灵长类的动物进化步骤的年代。

许多细胞器基因含有内含子

通过对人类和酵母中的线粒体基因组系统的深入研究发现前体 RNA 的加工过程是非常重要的。在人类细胞中，线粒体的两条链都在一个启动子的作用下以同样的速度转录，产生两条巨大的 RNA 分子，每一条都是全长的 DNA 的拷贝。因此转录是完全对称的，转录产物经核酶切割产生两个 rRNA，大多数的 tRNA 和大约 10 个含有 polyA 尾的 RNA，而另一条 RNA 分子经核酶切割产生 8 个 tRNA 和一个含有 polyA 尾的 RNA，其余的 90%的转录产物显然是一些无用信息，只是和另一条链上的编码序列互补，最终就被降解了。含有 polyA 尾

的 RNA 是线粒体的 mRNA：尽管 5′端没有帽子结构，但是 3′端有线粒体 polyA 聚合酶架上的 polyA 尾巴。

高等植物的叶绿体含有大约 120 个基因

有 20 多个叶绿体基因已经测序。亲缘关系不是很近的植物（如烟草和地钱）的基因甚至是一样的，甚至绿藻的基因与他们也很接近（图 14-59）。叶绿体基因包含在 4 个主要的过程中：转录、翻译、光合作用和小分子如氨基酸、脂肪酸、色素的生物合成中。植物叶绿体编码至少 40 种目前功能还不明确的蛋白质。另外，至少 2 倍的功能还不明确的基因存在于某些藻类叶绿体中。不可思议的是，现在已知的所有叶绿体编码的蛋白质都是蛋白质复合体的一部分，这些蛋白质复合体包括一个或多个亚基编码核酸。后文将解释这些疑惑的可能原因。

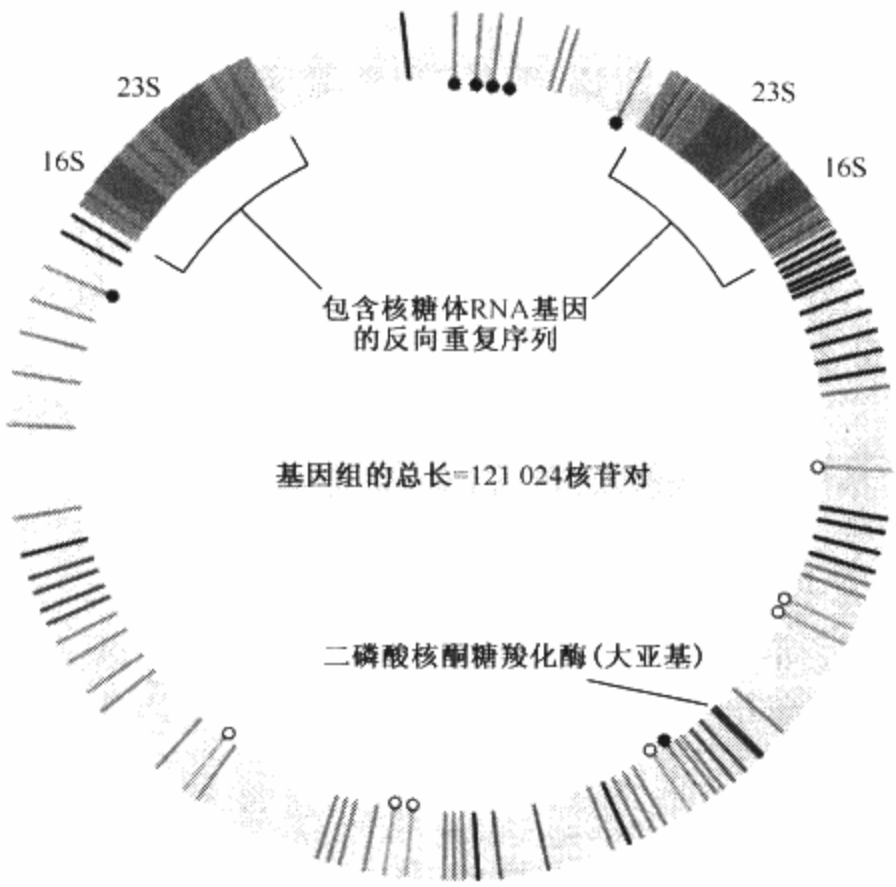


图 14-59　地钱叶绿体的组织

所有的高等植物的叶绿体的组织是非常相似的，尽管大小在不同物种之间相差甚远——取决于编码 16S 和 23S rRNA 的叶绿体基因周围的基因在两个物种中的多少

叶绿体基因和细菌基因的相似性是惊人的。基本的调整序列如转录启动子和终止子在两者中是相同的。叶绿体编码的蛋白质氨基酸序列可以被细菌识别，叶绿体中功能相关的几个基因簇（如那些编码核糖体蛋白质的）与大肠杆菌基因和蓝藻基因的组织方式相同。

进一步比较大量的同源核苷酸序列可以有助于阐明从细菌到叶绿体的进化路径。但是现在我们已经可以得出以下结论：

1. 高等植物的叶绿体起源于细菌的光合作用。

2. 通过对烟草和地钱的时间估计，叶绿体基因在至少几百万年中被稳定的保存下来。

3. 多数的原始细菌的基因现在在核基因中存在，在核中基因被完整和稳定地保存。在高等植物中，如 60 个核糖体蛋白质的 2/3 由细胞核编码。叶绿体核糖体保留了它们的原始细菌特性。

线粒体基因以非孟德尔机制遗传

关于线粒体生源机制已经用酿酒酵母做了很多实验。选择酿酒酵母有几个原因，其一，依靠葡萄糖生存时这种酵母可以单纯依靠糖酵解生存，也可以凭不能完成氧化磷酸化的有缺陷的线粒体存活。这使得妨碍线粒体功能的存在线粒体和核 DNA 突变的细胞的生长成为可能，这样的突变对许多真核生物是致命的。其二，酵母是很容易生存的单细胞生物，并且生化特性明显。最后，这些酵母可以通过出芽进行无性繁殖。在有性繁殖中两个单倍体细胞配对融合成双倍体的结合子，可以进行有丝分裂也可以减数分裂成单倍体细胞。

在实验室控制有性繁殖和无性繁殖来进行遗传分析很便利。线粒体基因突变不能符合孟德尔规律遗传而细胞核基因遗传符合孟德尔规律。因此在线粒体基因被测序前很久，遗传研究就揭示了哪些参与酵母线粒体功能基因位于细胞核，哪些位于线粒体。图 14-60 是一个在单倍体酵母细胞线粒体基因的非孟德尔遗传例子。在这个例子中，一个突变基因的遗传使线粒体蛋白质的合成能够抗氯霉素。

当一个氯霉素抗性的单倍体细胞和一个氯霉素敏感的野生型单倍体细胞交配时，二倍体的卵子既含有突变型的也含有野生型的基因组。两种线粒体彼此融合形成一个连续的线粒体。当受精卵进行有丝分裂时，突变的线粒体 DNA 和野生型线粒体 DNA 被随机分配到子代二倍体酵母中。对于核 DNA，每个子代细胞都有一对同源染色体，分别来自于两个母本细胞；然而，对于线粒体 DNA，经过一次有丝分裂，线粒体 DNA 在子代细胞间的分配不是均等的，即一个细胞中可能得到更多变异的线粒体 DNA，也可能得到更多的野生型的线粒体 DNA；而且子代细胞继续分裂这种差异还会扩大，最终将产生只有一种线粒体 DNA 基因型的细胞类型。这个随机过程被称为有丝分裂。

当以上述方式进行线粒体基因分离的细胞减数分裂形成单倍体细胞时，产生的 4 个子代细胞将得到完全相同的线粒体基因，这种遗传方式属于非孟德尔遗传，或者是线粒体遗传。图 14-60 表示核基因的孟德尔遗传与其的区别。非孟德尔遗传表明分离的基因位于核外，不属于核基因。

由于线粒体 DNA 分子通常是锚定在内膜上，所以在线粒体组成的网状系统中核酸分子是相对静止的，但是有时两个线粒体内的核酸也会融合到一起。例如，在受精卵形成时来自母本和父本的线粒体系统会发生融合，这时核酸分子融合的频率就相当高。当两个不同的 DNA 分子处于同一核内时，就可以发生遗传重组。重组后产生的线粒体基因组能够通过有丝分裂稳定地遗传。

细胞器基因的母系遗传

细胞质遗传不仅对酵母而且对很多生物都有深远的影响，也包括我们人类。当酵母两个单倍体细胞配对时，它们体积相等，为结合体提供相等数量的线粒体 DNA（图 14-60）。因此，酵母的线粒体遗传是双亲的：双亲对后代的线粒体基因库贡献均等（尽管，正如我们所见，在经过几代无性繁殖后，一个后代经常只含有从一个父本而来的线粒体）。在高等动物则相反，卵细胞往往比精子对细胞质贡献更多。人们便猜想在高等动物线粒体遗传近似单亲遗传，更确切地说，是母系遗传。这类母系遗传已在实验动物中得到证实。当携带 A 型线粒体 DNA 的动物与携带 B 型线粒体 DNA 的动物杂交时，后代只含有母辈的线粒体 DNA 类型。与之相似，经过大家族中线粒体 DNA 序列不等量遗传，表明人类线粒体 DNA 是母系遗传。

在大约 2/3 的较高等植物中，来自父本的叶绿体（包含在花粉颗粒中）不进入受精卵，

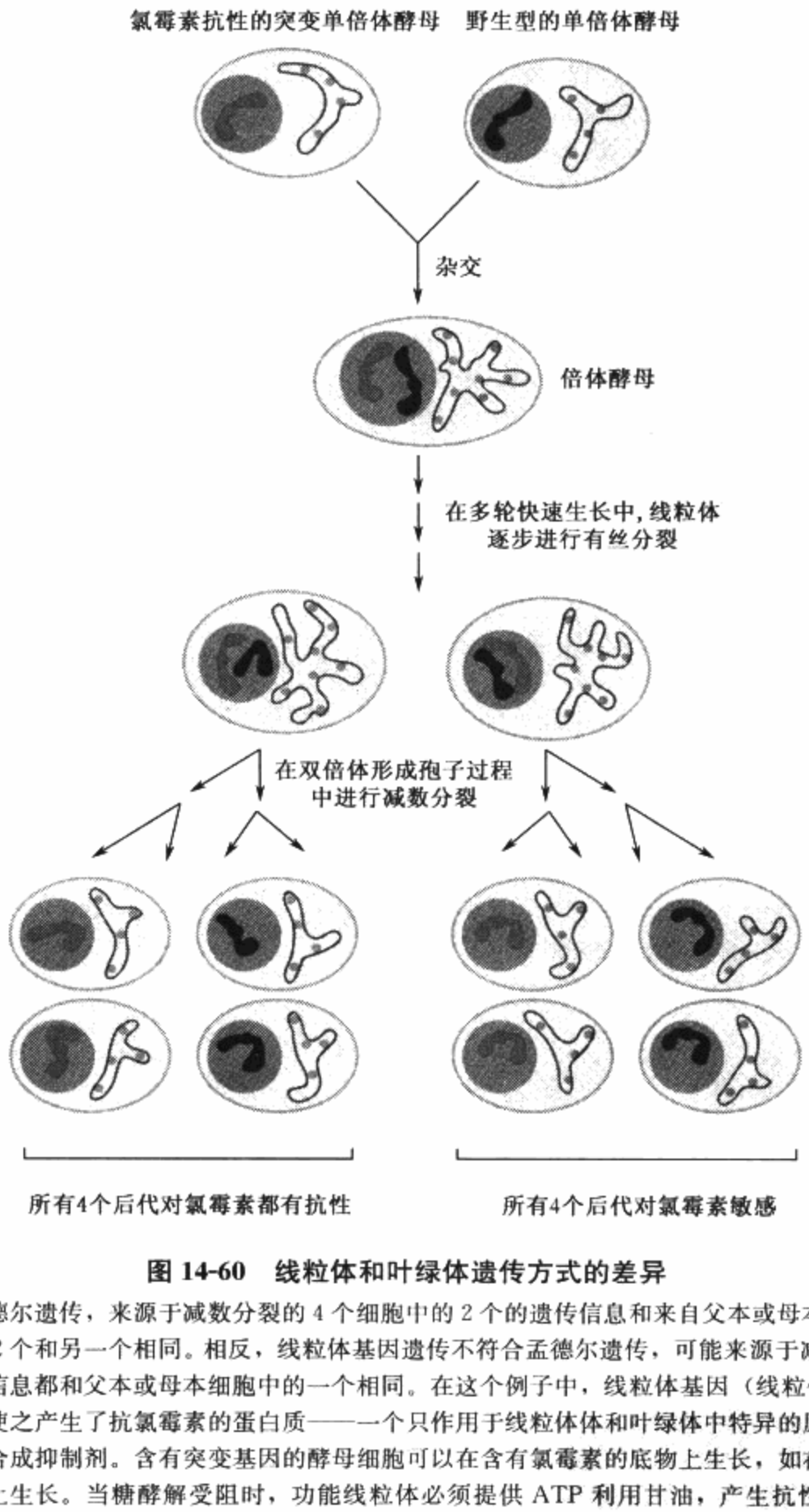


图 14-60　线粒体和叶绿体遗传方式的差异

核基因符合孟德尔遗传，来源于减数分裂的 4 个细胞中的 2 个的遗传信息和来自父本或母本中的遗传信息相同，另外的 2 个和另一个相同。相反，线粒体基因遗传不符合孟德尔遗传，可能来源于减数分裂的 4 个细胞中的遗传信息都和父本或母本细胞中的一个相同。在这个例子中，线粒体基因（线粒体 DNA 用蓝点表示）的突变使之产生了抗氯霉素的蛋白质——一个只作用于线粒体体和叶绿体中特异的原核细胞样的核糖体的蛋白质合成抑制剂。含有突变基因的酵母细胞可以在含有氯霉素的底物上生长，如在不能用来进行糖酵解的甘油上生长。当糖酵解受阻时，功能线粒体必须提供 ATP 利用甘油，产生抗性功能基因。因此，那些不含有氯霉素 DNA（绿点）的线粒体（野生型）的酵母不能生长

因此，叶绿体与线粒体都是母系遗传。在其他植物中，花粉叶绿体进入受精卵，使叶绿体为双亲遗传。在这些植物中，叶绿体缺陷造成杂色：在植物生长和发育过程中，可以通过有丝分裂挑选出在一个受精卵中含有正常和缺陷叶绿体的混合体，这样就可以产生绿色和白色斑点交互的叶片。绿色斑点含有正常叶绿体，而白色斑点含有缺陷叶绿体（图 14-61）。

一个人类受精卵携带约 2000 个线粒体基因组的拷贝，除一两个外，都遗传自母本。如果一个人的这些基因组中携带一个有害突变，一般不能存活。但是有些母亲带有突变和正常线粒体基因组混合体，她们的女儿和儿子遗传了这些正常和突变线粒体 DNA 混合体并且健康，

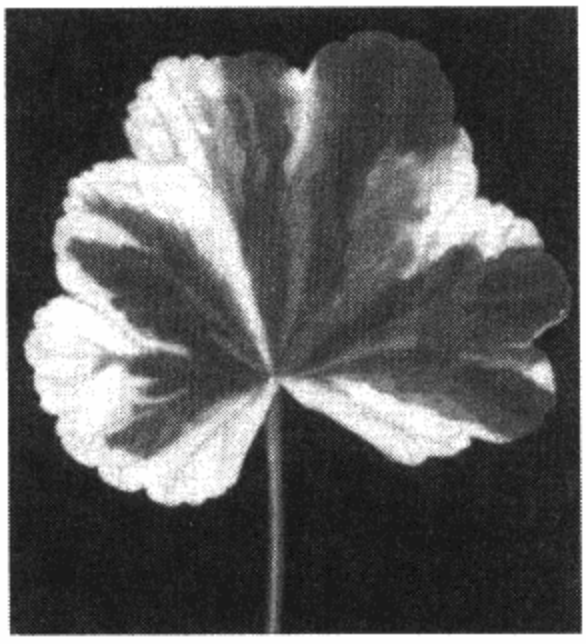


图 14-61　一个斑叶

在白色的地方，植物遗传的是有缺陷的叶绿体

（经 John Innes 基金许可）

除非在有丝分裂过程中恰好使得一特定组织得到了大部分缺陷线粒体。肌肉和神经组织由于需要大量 ATP，所以最危险。

由线粒体 DNA 突变引起的人类遗传病可以通过其传播途径得到确定：从受影响的母亲遗传给她的女儿和儿子，由女儿而不是儿子产生得病的孙辈。正如根据有丝分裂的随机特性所推断的那样，这类疾病的症状在不同家族成员中有很大差别，不仅包括严重程度和发病年龄，而且包括哪一组织受感染。

例如，由一个 tRNA 基因突变而引起的肌阵挛性癫痫伴随红纤维病。当某一组织偶然遗传了极限量的缺陷线粒体 DNA 基因组时发生该病。超过这一极限量，缺陷 tRNA 的蓄积导致电子传递和 ATP 合成所需的线粒体蛋白质的合成减少。结果可能是肌肉无力或心脏问题（由对心肌的影响而得），表现癫痫或痴呆（由对神经细胞的影响而得），或其他症状。在其他许多线粒体疾病中也发现了类似的表型多样性，这并不令人惊讶。

由于在线粒体发现的非同一般的高突变率，人们提出在线粒体 DNA 累积的突变可能涉及许多老年医学问题。

酵母 petite 突变体说明了细胞核在线粒体生物发生中的重要作用

酵母的遗传研究对线粒体的生物发生分析有重要的作用。一个显著的例子是对包含大片段缺失的线粒体 DNA 的酵母细胞的研究，这种情况下，所有的线粒体蛋白都不能合成了，这些线粒体不能进行呼吸作用。许多酵母细胞同时缺失线粒体 DNA，因为当它们在低葡萄糖含量的培养基上生长时往往形成一些小的克隆，所有这些含有缺陷的线粒体的突变体都叫做胞质 petite 突变体。

虽然 petite 突变线粒体不能合成蛋白质且不能产生 ATP，但是它们是有线粒体的。这些线粒体外膜和内膜是正常的，但是嵴发育不好（图 14-62）。线粒体内的所有蛋白质都是由核

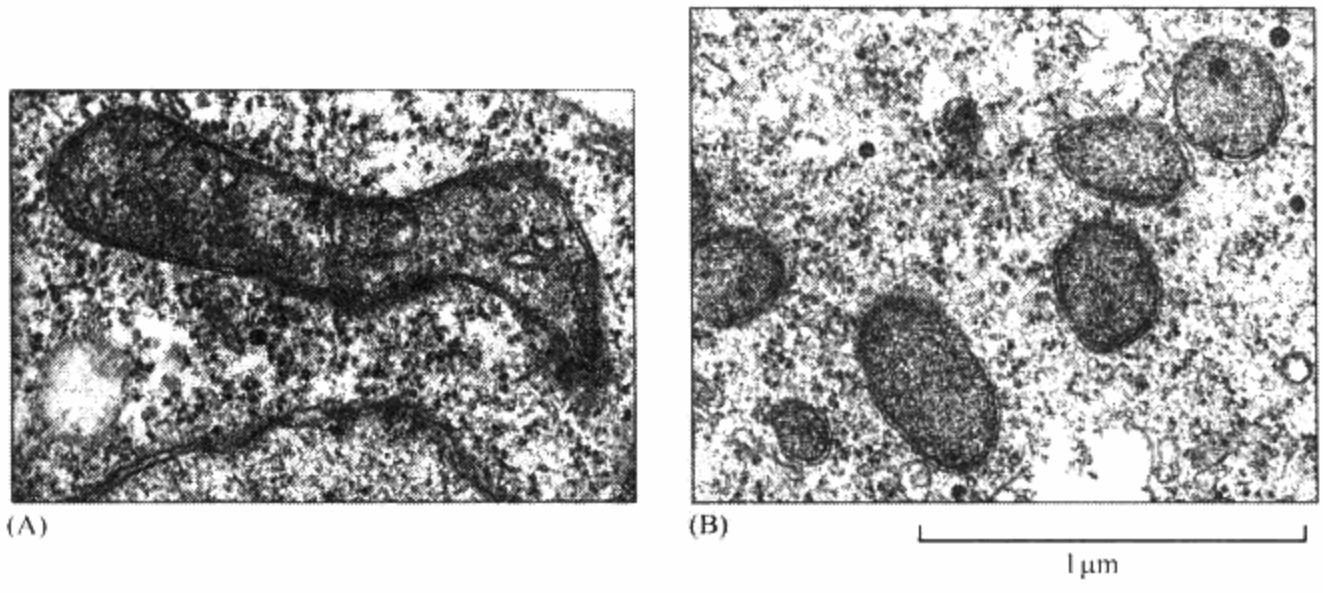


图 14-62　酵母细胞的电镜图

（A）正常线粒体的结构。（B）突变的线粒体。在 petite 突变线粒体中，线粒体基因编码的产物全部丢失，线粒体是由核基因编码的蛋白质构建的（经 Barbara Stevents 许可）

基因编码从胞质中运到线粒体中的，包括 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶，所有的三羧酸循环所需的酶类和绝大多数内膜蛋白，这表明细胞核在线粒体发生中的重要作用。petite 突变线粒体即使在没有自身基因组的情况下也能在增殖的真核细胞中通过分裂的方式无限制地复制下去，过氧化物酶体可能也是通过这种复制方式复制的（图 12-34）。

对叶绿体而言，与酵母线粒体 petite 突变体最近的突变体是单细胞藻类如 *Euglena* 的突变体。这种藻类突变体不能合成叶绿体蛋白，但是仍然是含有线粒体的，在提供可氧化的底物的情况下仍然是可育的。尽管如此，在高等植物中如果成熟线粒体的发育受阻，那么将植物放在黑暗中或者是线粒体的 DNA 缺失或有缺陷的话，植物都会死亡。

线粒体和叶绿体含有由细胞核编码的组织特异性蛋白

特定类型的细胞中的线粒体有不同的功能。例如，尿素循环是哺乳动物处理含氮的降解产物的主要代谢途径。这些产物在尿中以尿素的形式被分泌出来，线粒体中由核基因编码的酶参与尿素循环的几个步骤。尿素只在几个组织中合成（如肝中），尿素循环所需的酶被运到这些特定组织的线粒体中。

体内膜上的呼吸作用酶复合体中含有几个组织特异性的由核基因编码的亚基调节电子传递。因此，一些有遗传肌肉疾病的患者的细胞色素氧化酶的亚基有缺陷，但是因为这种缺陷仅限于骨骼肌肉细胞，所以他们的其他细胞包括心脏细胞功能是正常的，患者能够存活下来。我们也可以预料，这种核基因编码的组织特异性的差异在叶绿体中也是存在的。

线粒体的大多数脂类是运入的而叶绿体的大多数脂类是自身合成的

新的线粒体和叶绿体的生物合成需要大量的脂类和核酸、蛋白质。叶绿体能合成所需的大多数脂类。例如，菠菜叶中所有的脂肪酸的合成都是在叶绿体中进行，而去饱和作用却是在其他地方进行的。叶绿体的主要糖脂也是在局部合成的。

而线粒体需要的脂类大多是运入的，在动物细胞中，卵磷脂和磷脂酰丝氨酸在内质网上合成然后运到线粒体的内膜上。除了磷脂酰丝氨酸到磷脂酰乙醇氨的脱羧基反应外，由线粒体本身催化的脂类的合成反应是运入的脂类到心磷脂（双磷脂酰甘油）的转变。心磷脂是含有 4 个脂肪酸的双磷脂（图 14-63），主要位于线粒体内膜上，占整个脂类的 20%。

关于特异的胞质蛋白是怎样被运入线粒体和叶绿体中的，我们在第 12 章已对一些关键问题进行了讨论。

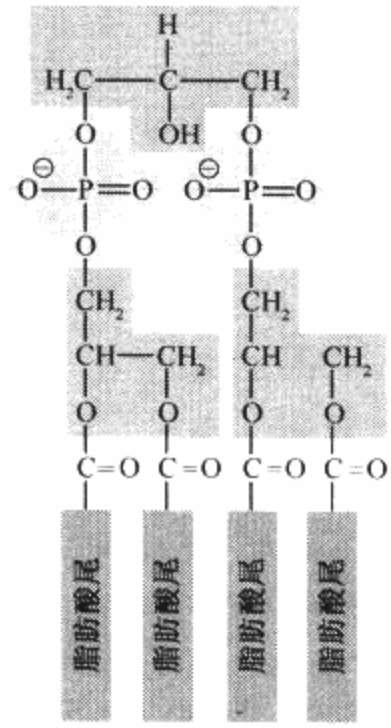


图 14-63　心磷脂的结构

心磷脂是内膜上的一个重要的脂

为什么线粒体和叶绿体有自己的遗传系统呢？

为什么线粒体和叶绿体需要自己的遗传系统，而胞质中其他的过氧化物酶体和溶酶体没有呢？这个问题并不复杂，因为维持一个单独的遗传系统是花费很大的：90%以上的蛋白质（包括大多数的核糖体蛋白、氨酰 tRNA 合成酶、DNA 和 RNA 聚合酶、RNA 加工和修饰酶）都必需由核基因特异地编码（图 14-64）。线粒体和叶绿体中这些蛋白质的氨基酸序列和胞质中和核中的相应蛋白质的氨基酸序列不同，和细胞中的其他细胞器一样，线粒体和叶绿

体中的蛋白质数量相对要少得多，这意味着核至少要提供 90 个基因以维持每个细胞器的遗传系统。对细胞如此耗费的安排的原因我们还不是很清楚，希望线粒体和叶绿体的核酸序列能为我们提供答案，但是还没有解决这个问题，我们还不能想出一个令人信服的原因，为什么有些线粒体和叶绿体蛋白不在胞质中合成。

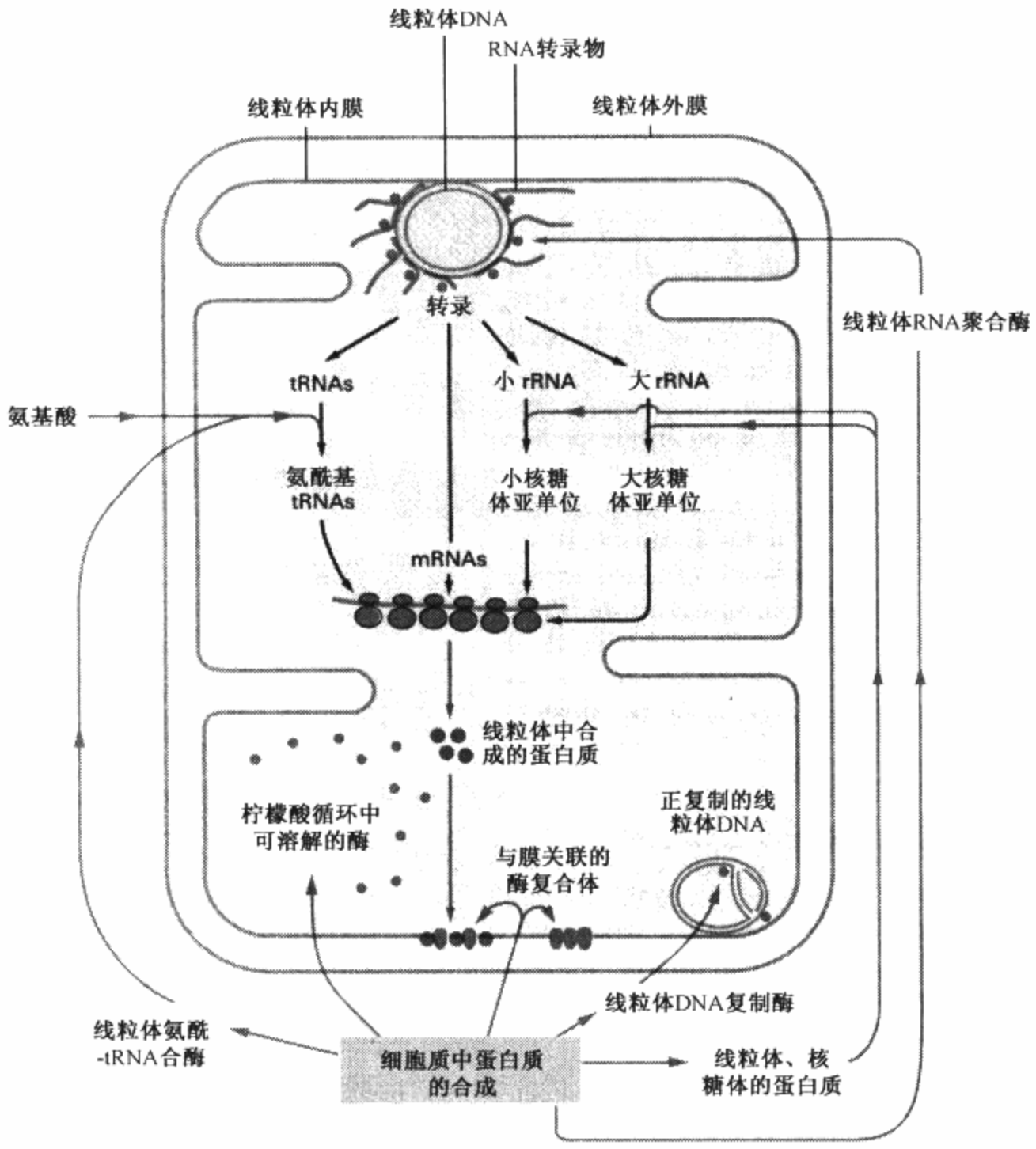


图 14-64　线粒体 RNA 和蛋白质的起源

核基因编码胞质中合成并运入线粒体中的蛋白质除了构成大多数的线粒体蛋白外，在线粒体遗传系统的构建中也起到了非常重要的作用。在图中没有标出核基因编码胞质中合成并运入线粒体中在转录后水平上调节线粒体基因的蛋白质。线粒体本身只编码一些 rRNA、tRNA 和一些 mRNA

曾经有人提出，许多线粒体蛋白之所以在细胞器中合成是因为它们在从胞质运入的过程中太容易被水解了。最近有证据表明这种解释是不合理的。在许多情况下，尽管各种线粒体酶复合物中的单个亚基在进化上是高度保守的，但是它们的合成位点并不保守（图 14-57）。任何推测目前存在的线粒体和叶绿体进化优势的假说都很难解释编码细胞器的功能亚基的基因分布多样性。

也许细胞器遗传系统处于进化的终末了。在内共生假说中，这意味着内共生物在将其基因转移到核的过程还没结束就中止了。进一步的转移很难发生了。对线粒体来说，如果某些

基因已经成功地转移到核中去了，那么这些基因在线粒体中的改变就会使它们失去功能。

小结

线粒体和叶绿体的生长需要核基因系统和细胞器基因系统的协同作用。这些细胞器中的大多数蛋白质都是由核基因编码的，在胞质中合成然后运到细胞器中。细胞器 DNA 编码一些 RNA 和细胞器蛋白，在这些细胞器中合成。人类的线粒体基因组包含16 500个核苷酸，2 个 rRNA，22 个 tRNA 和 13 个不同的多聚 mRNA。叶绿体基因组比线粒体的大 10 倍，含有约 120 个基因。即使在细胞器功能基因组突变体的细胞中，有功能的线粒体的数量还是正常的，这表明细胞核在这两种细胞器的生物合成中的重要作用。

叶绿体的核糖体和细菌的核糖体很相似而线粒体的核糖体与细菌的核糖体既相似又有很大区别，这就使线粒体核糖体的起源很难追踪。然而蛋白质相似性表明这两种细胞器都是起源于最初的真核细胞与内吞的细菌建立了一种稳定的内共生关系。线粒体的祖先被认为是一种紫色细菌，稍晚与一种光合细菌亲缘关系近的细菌进化出了植物叶绿体。尽管许多这种古老的细菌仍能够产生有功能的蛋白质，但是它们的大多数蛋白质已经整合到核基因组中去了，然后这些基因在胞质中合成细菌样的酶，运到细胞器中。

电子传递链的进化

许多细胞及有机物的结构、功能和进化都与它们对能量的需求有关。从完全不同来源如光合葡萄糖氧化获得的能量，我们已经看出生物体产能本质是一样的。很明显，高效合成 ATP 在进化早期已出现并且保存至今仅有少量变化。这种关键独特的成分如 ATP 的合成、H^+ 还原泵、光合系统最初是怎样产生的？有假设认为是时间进化引起的，却很难验证。但是在许多至今存在的细菌的不同原始电子传递链和 10 亿年前的地质环境中可以找到一些线索。

最早的细胞可能通过发酵产生 ATP

如第 1 章所述，地球上最早的活细胞产生于 3.5 亿年前，那时地球年龄还不到 1 亿年。环境中缺少氧气，但在地球化学合成中能产生大量的无机分子，因而早期产生 ATP 的这种新陈代谢方式可能类似于今天的发酵方式。

在这个发酵过程中，ATP 通过磷酸化产生富含 H 的有机分子如葡萄糖部分氧化时可产生可利用的能量。有机分子被氧化失去电子，电子通过 NADH 和 NADPH 传递给不同的有机分子或同一分子的不同部位，从而让这些分子变得更容易还原。在发酵结束时，一个或多个有机分子变成代谢废物排泄，其他的如丙酮酸盐则保留在细胞内以供生物合成。

不同的有机物排泄的终产物不同，但大多都是有机酸（带羧基的含碳化合物），在细菌中这样重要的代谢产物是乳酸（它也会在哺乳动物无氧糖酵解时堆积）、蚁酸、乙酸、戊酸酪氨酸、琥珀酸。

电子传递链使一些厌氧菌能利用非发酵分子作为它们主要的能量来源

早期发酵过程可能不仅产生 ATP，也产生生物合成所必需的一些还原物质如 NADH 和 NADPH。当发酵是产生能量的唯一方式时，多数代谢通路可能会进化。然而随时间的变化，这些原核生物的代谢活性可能会随周围的环境变化，使有机体进化产生新的生化通路。例如，酵解代谢废物的堆积可能会导致下列一系列的变化：

1. 有机酸不断地排泄降低了环境的 pH，使作为泵传递 H^+ 的蛋白质进化，这些蛋白质使 H^+ 泵出细胞来保护细胞免受酸的损害。这些泵中有一个可能利用 ATP 水解获得能量，也可能作为现在 ATP 酶的底物。

2. 同时，随着非酵解有机酸在环境中的积聚使 H^+ 泵进化，物化产生的酵解营养物的供应会减少。这些营养物可以给那些泵和细胞间作用提供能量。这些细菌可以释放 H^+ 而不需要 ATP，使 ATP 为其他细胞间活动所用。这种选择性的强制使得膜周蛋白能够利用分子间不同的氧化还原电位传递的电子作为能量来源使 H^+ 穿过质膜。一些膜周蛋白可在聚集的非酵解有机酸中找到电子给体和电子受体。许多电子传递蛋白质能够在现在的细菌中发现。例如，一些靠蚁酸生存的细菌，通过利用蚁酸转变为延胡索酸（图 14-65）的氧化还原的少许能量来泵出 H^+。其他一些有相同电子转移成分只供无机底物的氧化还原（图 14-67）。

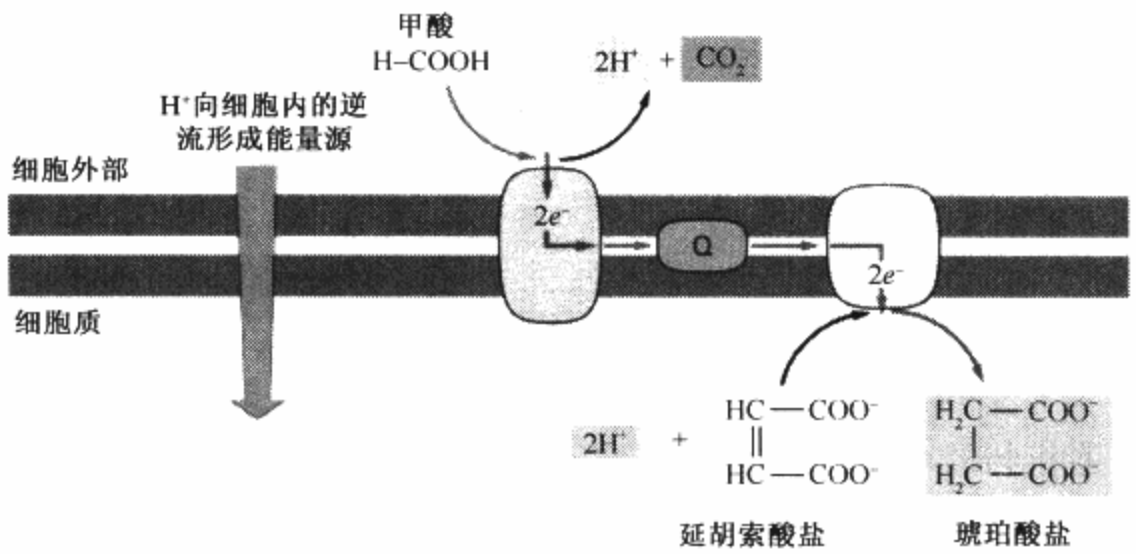


图 14-65　在细菌中蚁酸的氧化

在这些厌氧菌中，包括大肠杆菌，氧化是被质膜上的能量保存电子传递链所控制的。像显示的那样，开始的原料是蚁酸和延胡索酸盐，产物是琥珀酸盐和二氧化碳。注意到氢离子在细胞内部消耗在外部生成，就等同于把氢离子泵到细胞外。因此这种膜结合的电子转移系统通过质膜能产生一个电化学质子梯度。蚁酸-CO_2 的还原电位是 −420mV，而延胡索酸盐-琥珀酸盐的还原电位是 +30mV

3. 最终一些细菌强化其氢泵电子转移强化系统使其产生大量可以利用的氧化还原能量，这些能量远远超过其维持自身内部 pH 所需的能量。现在携带两种氢泵的细菌各有其优势。在这些单元中菌体通过 ATP 氢泵把过量的 H^+ 泵回菌体以获得较大的电化学质子电势，从而可以反向转运 H^+，使它们作为 ATP 合酶合成 ATP。虽然酵解营养物不断减少，但这些细菌所需的更少，这样它们就以周围的物质来进行增殖。

这三种关于氧化磷酸化机制进化的假设小结于图 14-66。

光合作用的菌体通过不可耗竭的还原力越过主要的进化障碍

这里概述的进化阶段可以解释细菌何以维持其单体间 pH 环境并储备大量的能量，但却不能解释另外一个同样重要的问题。从周围环境摄取有机营养物意味着有机体必须寻找可供选择的碳源以使糖用于合成其他单体间细胞分子合成的前体。尽管空气中有大量的 CO_2，提供了丰富的碳源，但要将其转变成有机分子如糖，需要有一定的 CO_2 通过强大的电子载体如 NADH 或 NADPH 来使其还原，这些电子载体有合成各单元（—COOH）的高能电子（图 14-39）。在进化早期，有大量的强大的还原物（电子载体）作为酵解产物。但是随着酵解营养物的减少，膜限制向 ATP 合酶开始产生大量的 ATP，大量 NADH 和其他还原物的供应将

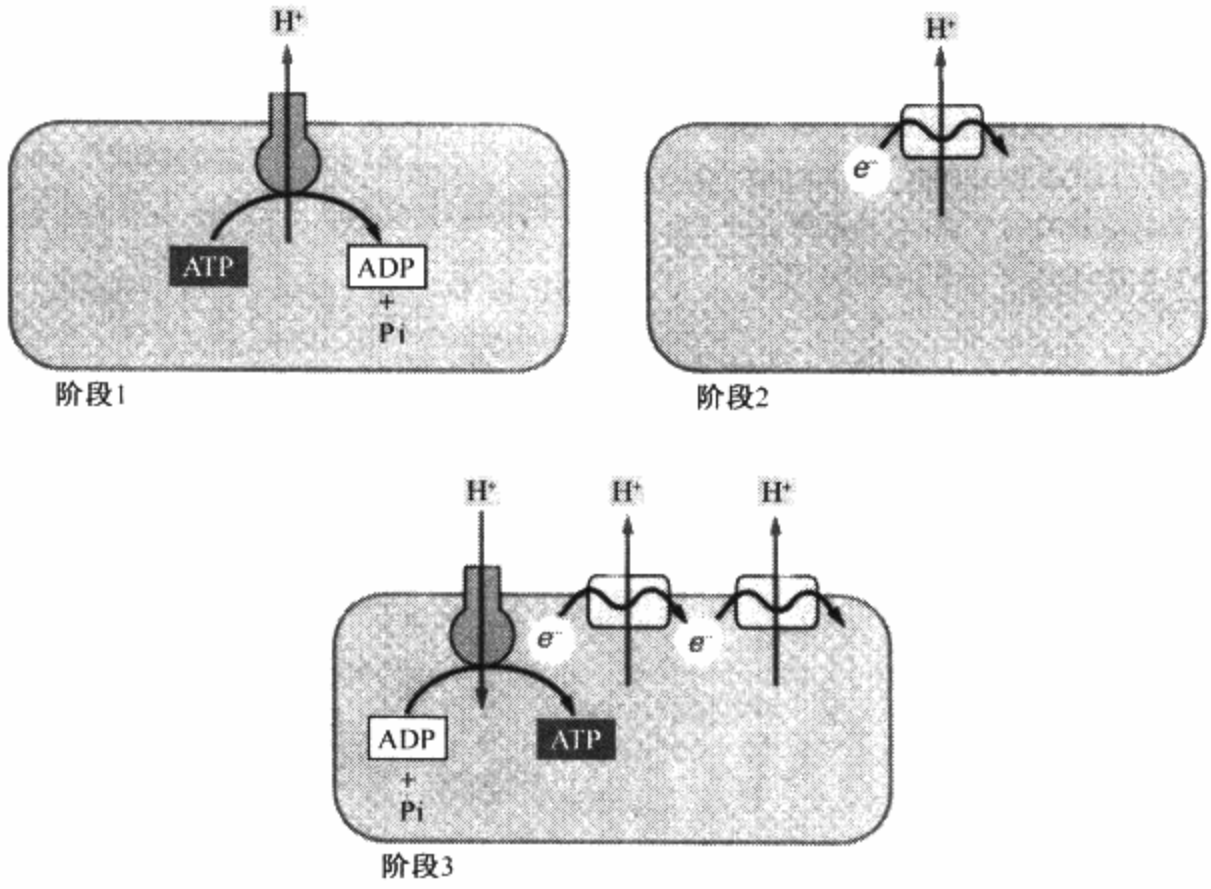


图 14-66　氧化磷酸化的进化

这里是一种可能的顺序：文中对这些阶段进行了具体讨论

会消失。这就要求细菌进化出一条新的通路来产生大量的还原物。大概主要的一些还原物还是糖类无氧代谢产生的有机酸、无机分子（如硫化氢和水）。但是这些分子的还原力很差不足以用于 CO_2 的固定。早期强大的电子载体的供应是通过质膜电化学质子产物来驱动反向电子流。这可能需要像 NADH 脱氢酶那样的膜结合复合体的进化，并且这种机制在现在的一些厌氧菌中仍存在（图 14-67）。

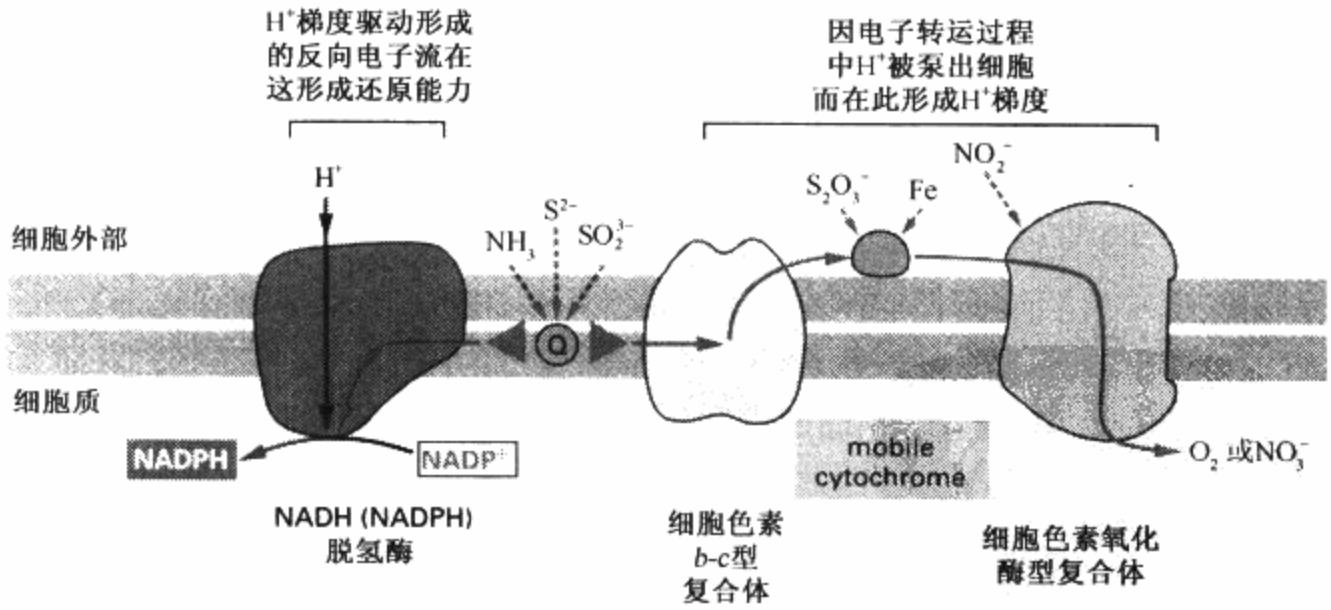


图 14-67　现在细菌中的一些电子转移方式

这些方式从氧化无机分子产生细胞中的所有 ATP 和还原力，无机分子如离子、氨水、亚硝酸盐、和硫的化合物。像指出的那样，一些细菌以硝酸盐代替氧作为最终电子接受体而存活。大部分用碳固定循环和由二碳化合物合成它们的有机分子。电子的顺流和逆流都是从醌开始的。在呼吸链中，电子的顺流使氢离子泵到细胞外，从而产生氢离子梯度驱动 ATP 合酶合成 ATP。碳固定所需的 NADPH 是由需能的逆电子流产生的，这一电子流同样也是由氢离子梯度驱动的

在能量代谢方面最主要的进化突破是光化反应中心利用太阳光能量产生像 NADH 的分子的发展。认为在 3×10^9 年前，在绿硫菌的祖先中，这一过程就在细胞进化过程中发生了。现在绿硫菌利用光能把氢原子从 H_2S 转移到 NADPH，这样就产生了碳固定所需的强大还原力（图 14-68）。因为从 H_2S 转移电子的还原电位比从 H_2O 转移的负得多（H_2S 的是 $-230mV$，H_2O 的是 $+820mV$），在这些细菌中被一个专一的光合系统吸收的光量子对产生一个高的足够的还原电位通过一个相对简单的光合电子传递链以产生 NADPH 是足够的。

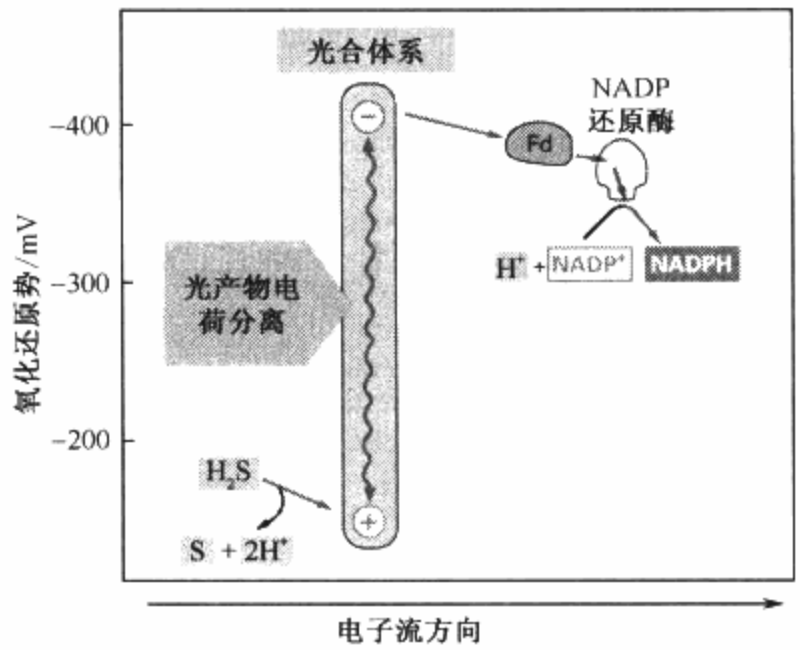


图 14-68　相对早期的磷酸化的电子流也可以在现在的绿色硫磺细菌中看到

其中的光学系统类似于植物和青色细菌中的光合作用系统Ⅰ。两种光合系统利用一系列的铁硫团簇作为电子载体，这些电子载体最终把这些高能的电子传递给铁氧还原蛋白。*Chlorobium tepidum* 就是这种菌体的一个例子，在高温天气和光照低的春天它们也能存活

藻青菌的光合电子传递链产生的大气中的氧和新的生命形式

由于 CO_2 的减少，有机体以水为电子来源的第二步的进化被认为随着藻青菌的发展至少在 3×10^9 年前已经发生过。这就必需水裂解酶的进化和第二个光合体系，此体系能和第一个连续起来，度过 H_2O 和 NADPH 之间的大的还原电势差。现在光合体系之间的异体同形物暗示了这一改变是两个光合系统的结合过程，包括绿色细菌的光合系统Ⅰ和紫色细菌的光合系统Ⅱ。这个进化的生物步骤是深远的。首先生物体在环境中对化学物质的需求很小。这些细胞可以以不同于那些需要 H_2S 和有机酸作为电子来源的早期光合细菌的方式生长和进化。因此，大量的生物合成还原物质积累下来，而且空气中第一次有了氧气。

氧是高毒物质因为它引起的氧化还原反应可以随机改变生物分子结构。例如，现在许多的厌氧菌放在空气中会很快死亡。因此，原始地球上的生物体就必须进化一个保护机制来对抗环境中氧气水平的提高。后来就进化出了许多解毒机制来保护细胞免受氧的副作用的影响。虽然如此，对人类细胞的大分子的氧化损害的累积被假定为是人老化的主要原因。

开始时空气中氧气的增加是很慢的，这样可能可以让生物体产生一些保护机制。早期的海洋里含有大量的 Fe^{2+}，并且几乎所有的光合菌产生的氧气都被用来把 Fe^{2+} 转化为 Fe^{3+}。这种转变导致了大量氧化铁的沉积，开始于 2.7×10^9 年前的存在于沉积岩中的广泛结合的离子构成加速了藻青菌的生长。大约 2×10^9 年前，含铁离子的供应已耗尽，其他离子沉积物的沉积也停止。地质学的证据暗示空气中氧气的水平开始升高，在 $0.5\times10^9\sim1.5\times10^9$ 年之前已达到现在的水平（图 14-69）。

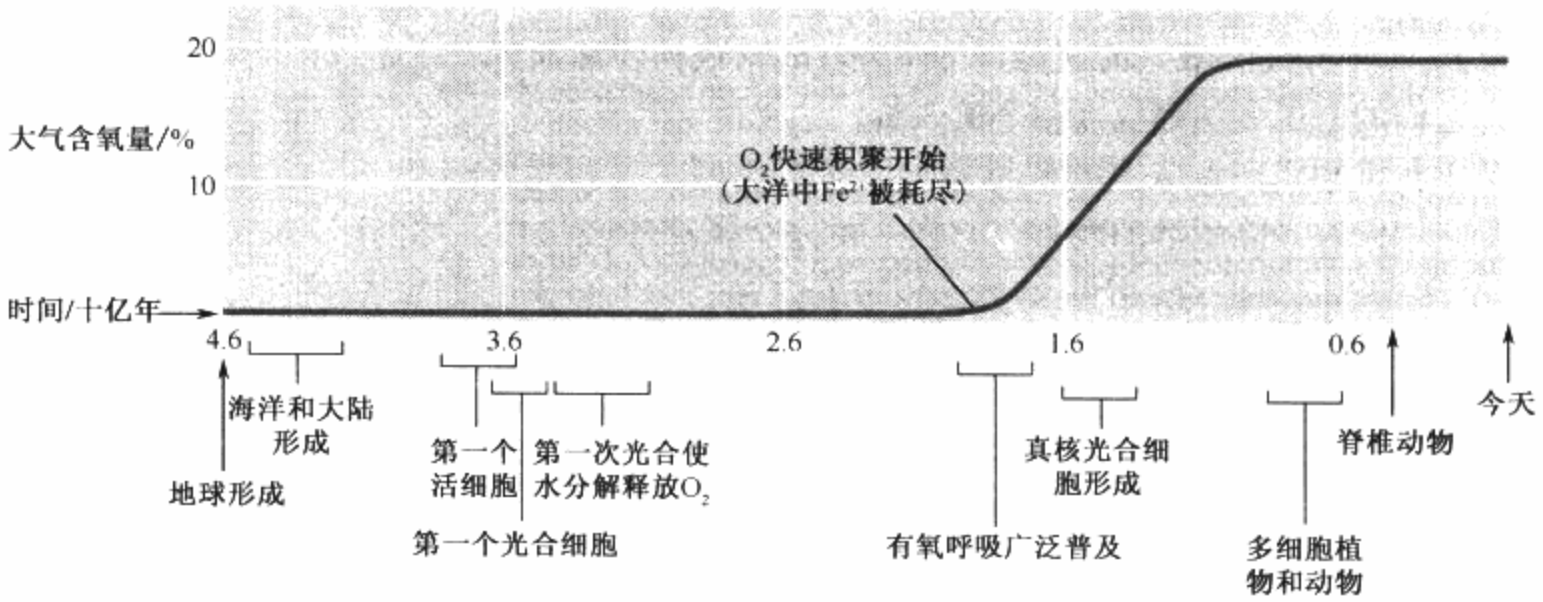


图 14-69　普遍认为地球上的有机体进化时都经历几个主要的过程

随着以膜为基础的光合作用的进化，有机体能够利用 CO_2 合成自己的有机分子。如同在文中说明的，在磷酸化时能够产生水和氧气的细菌的出现与空气中大量氧的聚集相差 1 亿年，这可能是由于早期海水中有大量的亚铁离子与氧发生反应的原因。只有当铁离子用完后氧才开始在空气中积聚。随着氧的增加，利用氧的非光合成系统出现，空气中的氧就达到一定的量

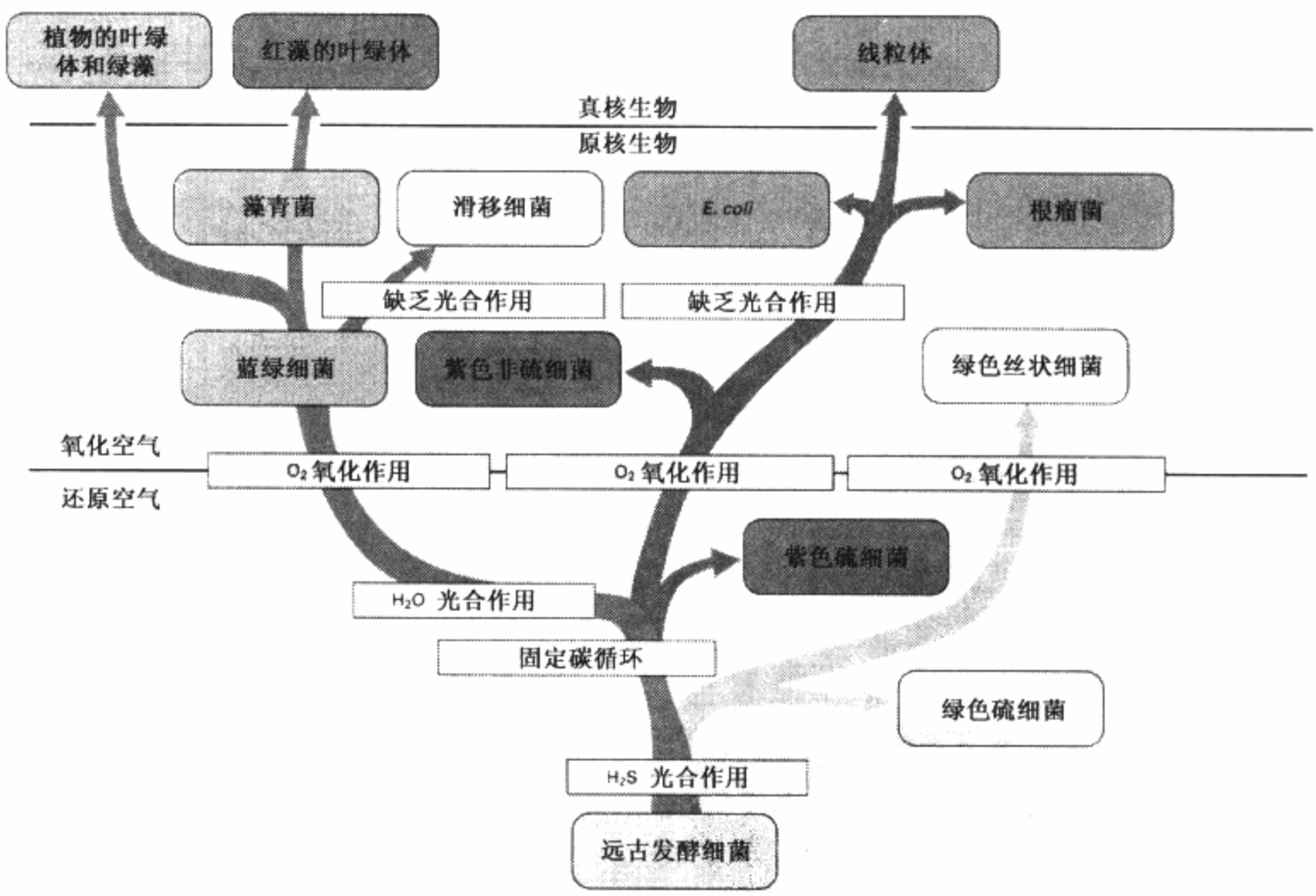


图 14-70　线粒体和叶绿体及它们的前体的进化都可假想为一棵系统发育进化树

氧呼吸开始于大约 2 亿年前。如前所指出的，绿色、紫色及黄绿色系列的光合作用体都独立地进化了。由于线粒体的出现需氧的紫色菌体失去了光合作用的能力，而其他几种黄绿色菌体则是产生了叶绿体。核苷酸序列分析紫色细菌线粒体的出现类似于根瘤细菌、土壤细菌和病原体这三类相近的种系，它们与现在的真核细胞有较近的亲缘关系。Archea 不包含在这章所描述的光合作用系统中，但是不包含在这里

氧气的获得使依靠氧气产生 ATP 的细菌得以发展。如前所述，这些生物体可以通过分解碳水化合物和其他还原的有机分子甚至 CO_2 和 H_2O 释放能量。先前存在的电子转移体的成

分被修饰来产生细胞色素氧化酶，这样从有机和无机酶作用物得到的电子可以传给最终电子接受体 O_2。依靠光和氧气的获得，许多现在的紫色光合细菌可以在光合作用和呼吸作用之间转换，它们的电子传递链仅需很小的改变。

由于有机物质在地球上的积累导致了光合作用，一些光合细菌（包括大肠杆菌的祖先）丢失了它们仅有光能生活的能力，它们变得完全依靠呼吸作用。如前所述，线粒体最早出现在 1.5×10^9 年以前，当一个原始的原核细胞内吞了一个依靠呼吸作用的细菌。认为植物进化得晚一些，当早期的好氧原核细胞内吞了一个光合细菌，此细菌也就成了叶绿体的前体。现在不同藻类的叶绿体不同，可能是因叶绿体在不同藻类分别进化的原因。图 14-70 展示了在本章中讨论的不同细菌的假定进化方式。

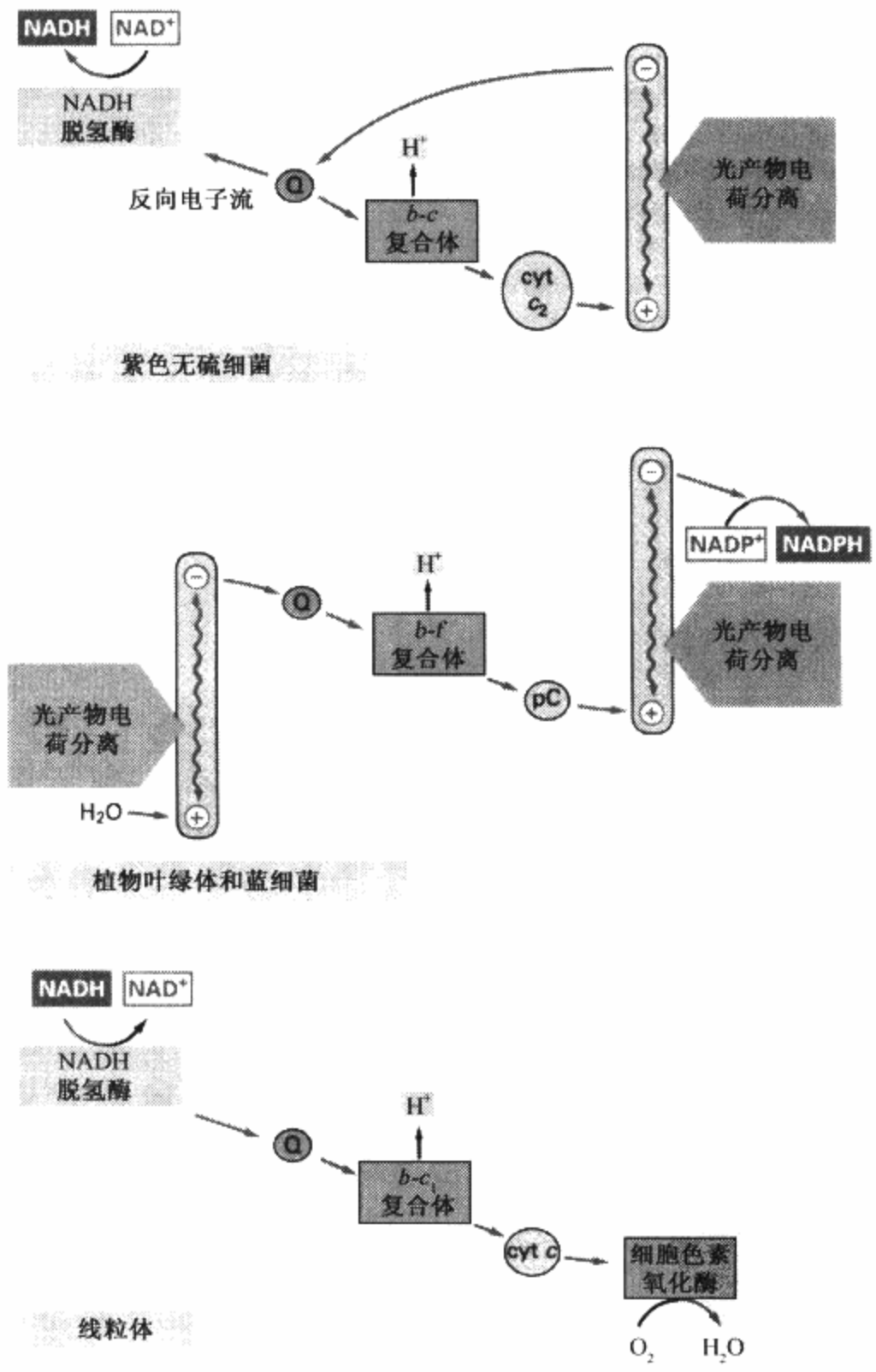


图 14-71　本章中所讨论的三种电子转移链所做比较

细菌、叶绿体和线粒体都包含一个膜周酶复合，类似于线粒体的细胞色素 $b\text{-}c_1$ 复合体。这些复合体都可以从苯醌接受电子，并从各自的膜转运 H^+，而且在体外重建系统中，不同的复合体可以取代另一种，它们的蛋白质复合体的氨基酸序列有进化一致性

进化通常是比较保守的，它是在原来基础上增加一些新的东西。因此，一部分 4×10^9 年前为厌氧菌服务的电子传递链得以存活下来，它们以其他形式在今天高等的真核生物的线粒体和叶绿体内存在。例如，线粒体呼吸链中心部分的 H^+ 泵的酶复合体和细菌叶绿体电子传递链中的类似物在结构和功能上都非常相似（图 14-71）。

小结

人们认为，早期的细胞是像细菌一样的生物体，生活在富含还原有机分子的环境中，这些有机分子是在数百万年的地球化学过程中形成的。它们可能通过把这些还原有机分子转变成各种有机酸来获得 ATP，有机酸作为废品释放出来。通过酸化环境，这些发酵导致了第一个膜 H^+ 泵的进化，它可以通过把氢离子泵到膜外来保持细胞内呈中性 。现在细菌的特性说明电子传递链驱动的氢离子泵和 ATP 驱动的氢离子泵最早出现在厌氧环境中。ATP 驱动的泵反过来可以使它具有 ATP 合酶的功能。随着越来越多的高效电子传递链的发展，通过还原反应释放的能量产生了一个大的电化学质子浓度梯度，还原反应是在无机分子和沉积下来的未发酵的化合物之间进行的，由 ATP 泵产生的 ATP 提供能量。因为通过地球化学过程补充预成型的有机分子比较慢，利用它们作为碳和还原能量来源的细菌繁殖就不能永远进行下去。发酵的有机营养物质的减少可能导致可以利用 CO_2 合成碳水化合物的细菌的进化。通过早期发展的部分电子传递链的结合，光能在光合细菌中被一个专一的光合系统捕获，以产生固定碳需要的 NADPH。后来藻青菌中越来越多的复杂光合电子传递链的出现，使得水可用作 NADPH 合成的电子给予体，而不是其他光合细菌需要的不丰富的电子给予体。生命就在地球大范围内繁殖起来。因此还原有机分子再次被沉积。

大约在 2×10^9 年前，藻青菌光合作用释放的氧气在空气中沉积。一旦有机分子和氧气变得充足，电子传递链就比较适合把电子由 NADH 传给 O_2，并且有效的需氧代谢在许多细菌中也发展起来。确切地说，今天真核生物线粒体中的同样的需氧代谢和越来越多的迹象表明线粒体、叶绿体都是由原始的真核细胞内吞了需氧细菌进化而来的。

参考文献

一般文献

Cramer WA & Knaff DB (1990) Energy Transduction in Biological Membranes: A Textbook of Bioenergetics. New York: Springer-Verlag.

Harold FM (1986) The Vital Force: A Study of Bioenergetics. New York: WH Freeman.

Mathews CK, van Holde KE & Ahern K-G (2000) Biochemistry, 3rd edn. San Francisco: Benjamin Cummings.

Nicholls DG & Ferguson SJ (1992) Bioenergetics 2. London: Academic Press.

Zubay GL (1998) Biochemistry, 4th edn. Dubuque, IO: William C Brown.

The Mitochondrion

Abrahams JP, Leslie AG, Lutter R & Walker JE (1994) Structure at 2.8Å resolution of F1-ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 370, 621–628.

Baldwin JE & Krebs H (1981) The evolution of metabolic cycles. *Nature* 291, 381–382.

Bereiter-Hahn J (1990) Behavior of mitochondria in the living cell. *Int. Rev. Cytol.* 122, 1–63.

Berg HC (2000) Constraints on models for the flagellar rotary motor. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355, 491–501.

Boyer PD (1997) The ATP synthase—a splendid molecular machine. *Annu. Rev. Biochem.* 66, 717–749.

Ernster L & Schatz G (1981) Mitochondria: a historical review. *J. Cell Biol.* 91, 227s–255s.

Frey TG & Mannella CA (2000) The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem. Sci.* 25, 319–324.

Harold FM (2001) Gleanings of a chemiosmotic eye. *BioEssays* 23, 848–855.

Hatefi Y (1985) The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annu. Rev. Biochem.* 54, 1015–1070.

Klingenberg M & Nelson DR (1994) Structure–function relationships of the ADP/ATP carrier. *Biochim. Biophys. Acta* 1187, 241–244.

Krstic RV (1979) Ultrastructure of the Mammalian Cell, pp 28–57. New York/Berlin: Springer-Verlag.

Kuan J & Saier MH, Jr (1993) The mitochondrial carrier family of transport proteins: structural, functional, and evolutionary relationships. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 28, 209–233.

Mitchell P (1961) Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature* 191, 144–148.

Racker E & Stoeckenius W (1974) Reconstitution of purple membrane vesicles catalyzing light-driven proton uptake and adenosine triphosphate formation. *J. Biol. Chem.* 249, 662–663.

Racker E (1980) From Pasteur to Mitchell: a hundred years of bioenergetics. *Fed. Proc.* 39, 210–215.

Rastogi VK & Girvin ME (1999) Structural changes linked to proton translocation by subunit c of the ATP synthase. *Nature* 402, 263–268.

Sambongi Y, Iko Y, Tanabe M et al. (1999) Mechanical rotation of the c subunit oligomer in ATP synthase (F_oF_1): direct observation. *Science* 286, 1722–1724.

Saraste M (1999) Oxidative phosphorylation at the fin de siecle. *Science* 283, 1488–1493.

Scheffler IE (1999) Mitochondria. New York/Chichester: Wiley-Liss.

Stock D, Gibbons C, Arechaga I et al. (2000) The rotary mechanism of ATP synthase. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 10, 672–679.

Electron-Transport Chains and Their Proton Pumps

Beinert H, Holm RH & Munck E (1997) Iron-sulfur clusters: nature's modular, multipurpose structures. *Science* 277, 653–659.

Berry EA, Guergova-Kuras M, Huang LS & Crofts AR (2000) Structure and function of cytochrome *bc* complexes. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 1005–1075.

Brand MD & Murphy MP (1987) Control of electron flux through the respiratory chain in mitochondria and cells. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 62, 141–193.

Brandt U (1997) Proton-translocation by membrane-bound NADH: ubiquinone-oxidoreductase (complex I) through redox-gated ligand conduction. *Biochim. Biophys. Acta* 1318, 79–91.

Chance B & Williams GR (1955) A method for the localization of sites for oxidative phosphorylation. *Nature* 176, 250–254.

Edman K, Nollert P, Royant A et al. (1999) High-resolution X-ray structure of an early intermediate in the bacteriorhodopsin photocycle. *Nature* 401, 822–826.

Gottschalk G (1986) Bacterial Metabolism, 2nd edn. New York: Springer.

Gray HB & Winkler JR (1996) Electron transfer in proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 65, 537–561.

Grigorieff N (1999) Structure of the respiratory NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) from *Escherichia coli*. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 9, 476–483.

Keilin D (1966) The History of Cell Respiration and Cytochromes. Cambridge: Cambridge University Press.

Lowell BB & Spiegelman BM (2000) Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* 404, 652–660.

Michel H, Behr J, Harrenga A & Kannt A (1998) Cytochrome c oxidase: structure and spectroscopy. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 27, 329–356.

Schultz BE & Chan SI (2001) Structures and proton-pumping strategies of mitochondrial respiratory enzymes. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 30, 23–65.

Thauer R, Jungermann K & Decker K (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41, 100–180.

Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E et al. (1996) The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8Å. *Science* 272, 1136–1144.

Wikstrom M (1998) Proton translocation by bacteriorhodopsin and heme-copper oxidases. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8, 480–488.

Chloroplasts and Photosynthesis

Allen JF & Pfannschmidt T (2000) Balancing the two photosystems: photosynthetic electron transfer governs transcription of reaction centre genes in chloroplasts. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355, 1351–1359.

Allen JP & Williams JC (1998) Photosynthetic reaction centers. *FEBS Lett.* 438, 5–9.

Barber J & Kuhlbrandt W (1999) Photosystem II. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 9, 469–475.

Bassham JA (1962) The path of carbon in photosynthesis. *Sci. Am.* 206(6), 88–100.

Bogorad L & Vasil IK (1991) The Molecular Biology of Plastids. San Diego: Academic Press.

Buchanan BB, Gruissem W & Jones RL (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists.

Deisenhofer J & Michel H (1989) Nobel lecture. The photosynthetic reaction centre from the purple bacterium *Rhodopseudomonas viridis*. *EMBO J.* 8, 2149–2170.

Edwards GE, Furbank RT, Hatch MD & Osmond CB (2001) What does it take to be c(4)? lessons from the evolution of c(4) photosynthesis. *Plant Physiol.* 125, 46–49.

Flugge UI (1998) Metabolite transporters in plastids. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 201–206.

Golbeck JH (1993) Shared thematic elements in photochemical reaction centers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1642–1646.

Grossman AR, Bhaya D, Apt KE & Kehoe DM (1995) Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: diversity, control, and evolution. *Annu. Rev. Genet.* 29, 231–288.

Hartman FC & Harpel MR (1994) Structure, function, regulation, and assembly of D-ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Annu. Rev. Biochem.* 63, 197–234.

Hatch MD (1987) C4 photosynthesis: a unique blend of modifed biochemistry, anatomy and ultrastructure. *Biochim. Biophys. Acta* 895, 81–106.

Jordan P, Fromme P, Witt HT et al. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5Å resolution. *Nature* 411, 909–917.

Langdale JA & Nelson T (1991) Spatial regulation of photosynthetic development in C4 plants. *Trends Genet.* 7, 191–196.

Nugent JH (1996) Oxygenic photosynthesis. Electron transfer in photosystem I and photosystem II. *Eur. J. Biochem.* 237, 519–531.

Rao K & Hall DO (1999) Photosynthesis. Cambridge: Cambridge University Press.

Rhee KH, Morris EP, Barber J & Kuhlbrandt W (1998) Three-dimensional structure of the plant photosystem II reaction centre at 8Å resolution. *Nature* 396, 283–286.

Rogner M, Boekema EJ & Barber J (1996) How does photosystem 2 split water? The structural basis of efficient energy conversion. *Trends Biochem. Sci.* 21, 44–49.

Zouni A, Witt HT, Kern J et al. (2001) Crystal structure of photosystem II from Synechococcus elongatus at 3.8Å resolution. *Nature* 409, 739–743.

The Genetic Systems of Mitochondria and Plastids

Anderson S, Bankier AT, Barrell BG et al. (1981) Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290, 457–465.

Birky CW, Jr (1995) Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 11331–11338.

Clayton DA (2000) Vertebrate mitochondrial DNA—a circle of surprises. *Exp. Cell Res.* 255, 4–9.

Contamine V & Picard M (2000) Maintenance and integrity of the mitochondrial genome: a plethora of nuclear genes in the budding yeast. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 281–315.

de Duve C (1996) The birth of complex cells. *Sci. Am.* 274(4), 50–57.

Douglas SE (1998) Plastid evolution: origins, diversity, trends. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8, 655–661.

Gray MW, Burger G & Lang BF (1999) Mitochondrial evolution. *Science* 283, 1476–1481.

Hermann GJ & Shaw JM (1998) Mitochondrial dynamics in yeast. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 14, 265–303.

Kurland CG (1992) Evolution of mitochondrial genomes and the genetic code. *BioEssays* 14, 709–714.

Kuroiwa T, Kuroiwa H, Sakai A et al. (1998) The division apparatus of plastids and mitochondria. *Int. Rev. Cytol.* 181, 1–41.

Martin W & Schnarrenberger C (1997) The evolution of the Calvin cycle from prokaryotic to eukaryotic chromosomes: a case study of functional redundancy in ancient pathways through endosymbiosis. *Curr. Genet.* 32, 1–18.

Ohlrogge J & Jaworski J (1997) Regulation of plant fatty acid biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 109–136.

Saccone C, Gissi C, Lanave C et al. (2000) Evolution of the mitochondrial genetic system: an overview. *Gene* 261, 153–159.

Sugita M & Sugiura M (1996) Regulation of gene expression in chloroplasts of higher plants. *Plant Mol. Biol.* 32, 315–326.

Wallace DC (1999) Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 283, 1482–1488.

Yaffe MP (1999) The machinery of mitochondrial inheritance and behavior. *Science* 283, 1493–1497.

The Evolution of Electron-Transport Chains

Blankenship RE & Bauer CE (eds) (1995) Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Dordrecht: Kluwer.

Blankenship RE & Hartman H (1998) The origin and evolution of oxygenic photosynthesis. *Trends Biochem. Sci.* 23, 94–97.

Blankenship RE (1994) Protein structure, electron transfer and evolution of prokaryotic photosynthetic reaction centers. *Antonie Van Leeuwenhoek* 65, 311–329.

Nisbet EG & Sleep NH (2001) The habitat and nature of early life. *Nature* 409, 1083–1091.

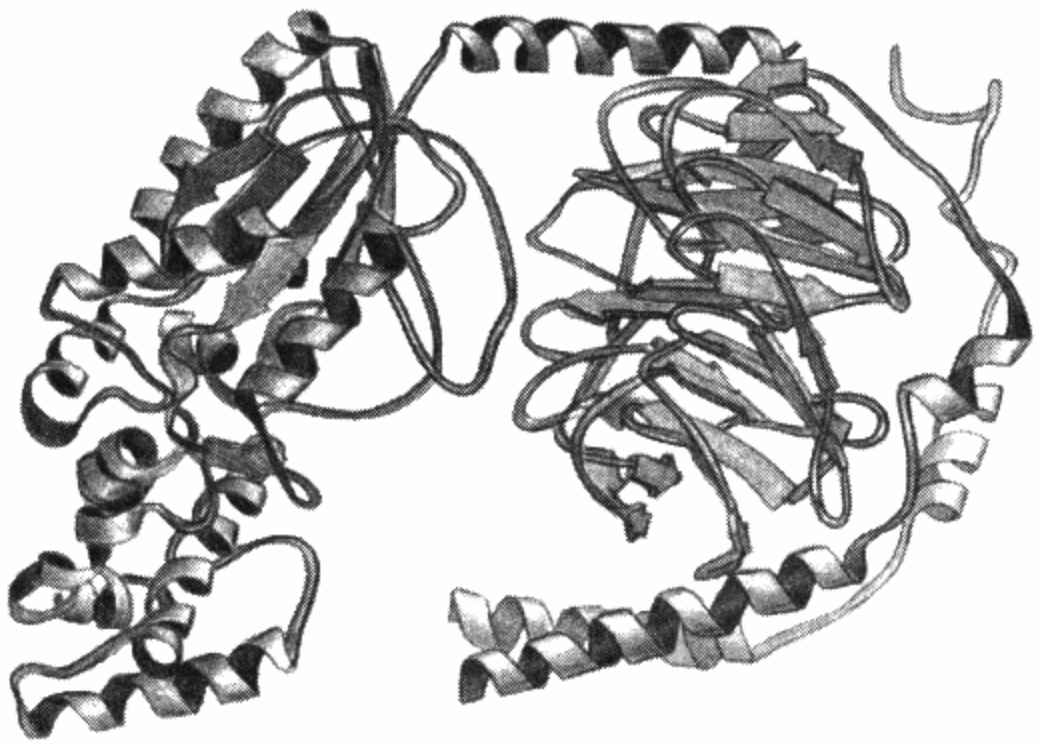
Orgel LE (1998) The origin of life—a review of facts and speculations. *Trends Biochem. Sci.* 23, 491–495.

Schafer G, Purschke W & Schmidt CL (1996) On the origin of respiration: electron transport proteins from archaea to man. *FEMS Microbiol. Rev.* 18, 173–188.

Schopf JW (1993) Microfossils of the Early Archean Apex chert: new evidence of the antiquity of life. *Science* 260, 640–646.

Skulachev VP (1994) Bioenergetics: the evolution of molecular mechanisms and the development of bioenergetic concepts. *Antonie Van Leeuwenhoek* 65, 271–284.

Xiong J, Fischer WM, Inoue K et al. (2000) Molecular evidence for the early evolution of photosynthesis. *Science* 289, 1724–1730.



一个三聚体GTP结合蛋白或者叫G蛋白。这种蛋白质和质膜上跨膜的酶类或者离子通道类受体相偶联。

（D. G. . Lombright et al.,Nature 379：311~319，1996.）

15 细胞通讯

细胞通讯的普遍原则
G 蛋白偶联的细胞表面受体介导的信号传递
细胞表面酶联受体介导的信号转导
依赖于可调控的蛋白酶解的信号转导途径
植物中的信号传递

根据化石记录，像现代细菌一样复杂的单细胞生物，在第一个多细胞生物出现之前已在地球上存在了大约 25 亿年。多细胞性进化如此缓慢的原因之一可能与发展多细胞生物所需的复杂的细胞通讯机制相关。如果多细胞生物的细胞为了生物体整体的利益而能控制它们自己的行为，细胞就必须以各种复杂的方式相互交流信息。

这些通讯机制主要依赖于胞外**信号分子（signal molecule）**。胞外信号分子是由细胞产生，将信号传递给周围细胞或远距离细胞。通讯机制也依赖于每个细胞都含有的复杂的蛋白质系统，这些蛋白质系统使得细胞能以细胞特定的方式对特定的信号做出应答。这些蛋白质包括与信号分子结合的细胞表面受体蛋白，以及许多种将信号分配到细胞合适部位的胞内信号蛋白。在这些胞内信号蛋白中有激酶、磷酸酶、GTP 结合蛋白以及与它们相互作用的许多其他蛋白质。每个胞内信号转导途径的末端是靶蛋白，当信号途径处于激活状态时，靶蛋白的活性被改变，从而改变细胞的行为。根据信号的作用，这些蛋白质可以是基因调控蛋白、离子通道、某个代谢途径的组分、细胞骨架的组分等（图 15-1）。

本章首先介绍细胞通讯的基本原则，然后依次介绍每一种细胞表面受体蛋白，以及它们激活的胞内信号转导途径。本章主要集中在动物细胞上，但后介绍植物细胞通讯的特征。

细胞通讯的普遍原则

早在多细胞生物出现在地球上之前，单细胞几乎已经存在一个细胞影响另一个细胞行为的机制。证据来自于现在单细胞真核生物（如酵母）的研究。尽管单细胞真核生物一般独立生活，它们能相互通讯并影响彼此的行为以准备性交配。例如，芽殖酵母当单倍体的个体准备交配时，它分泌一种称为交配因子的多肽，该交配因子将信号传递给交配型相反的细胞以停止增殖，准备交配（图 15-2）。随后两个相反配型的单倍体细胞的融合产生一个二倍体细胞，二倍体细胞接着进行减数分裂并出芽，产生具有新的基因分配的单倍体细胞。

对不能交配的酵母突变整体的研究，鉴定了许多该信号转导过程所必需的蛋白质。这些蛋白质形成一个信号传递网络，该网络包括细胞表面受体蛋白、GTP 结合蛋白以及蛋白质激酶，每种蛋白质可以在动物细胞中执行信号传递的蛋白质中找到同源蛋白质。然而与酵母的信号传递系统相比，动物的信号传递系统经过基因复制和分化变得更为复杂。

胞外信号分子与特定受体结合

酵母细胞为了交配，通过分泌几种小的多肽来彼此交流信息。然而，高级动物的细胞利

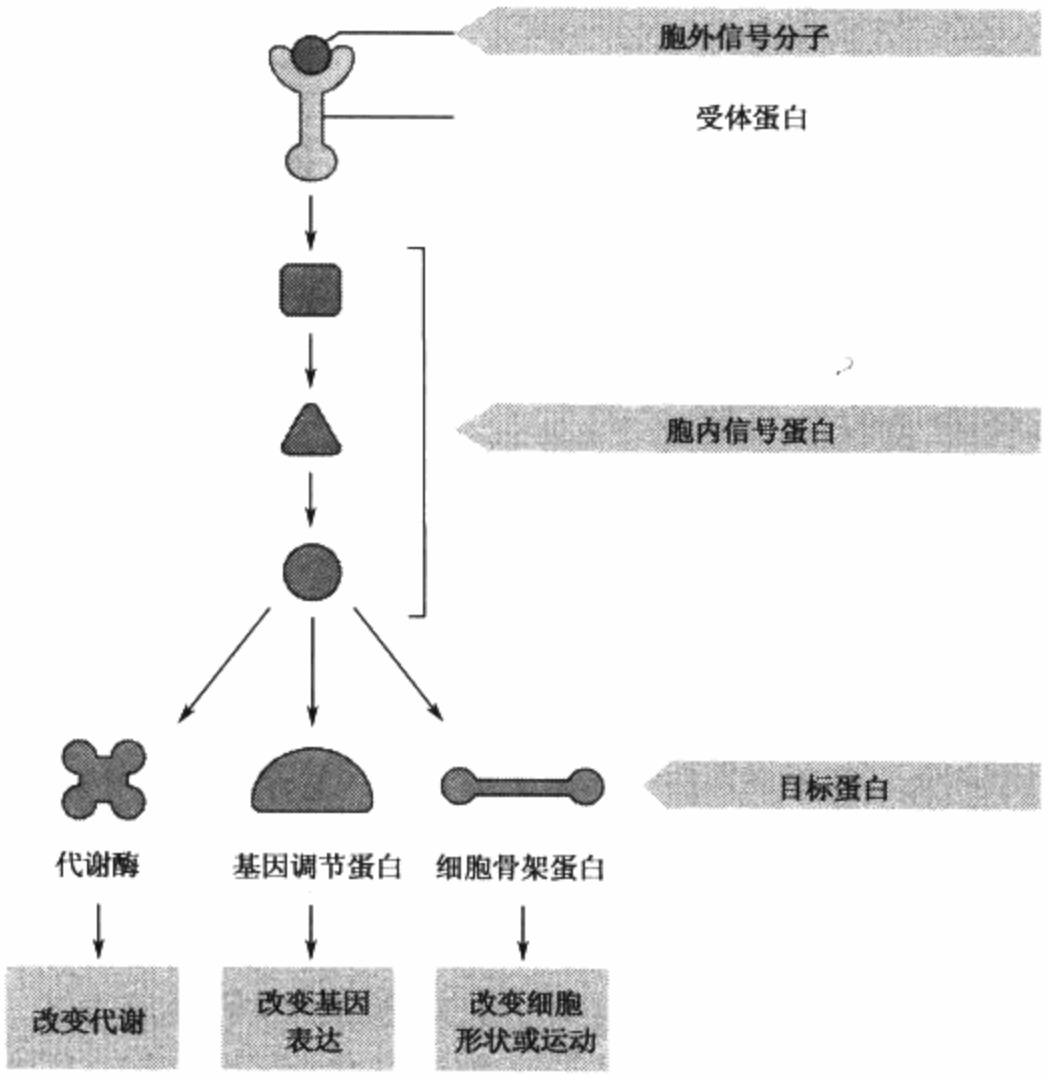


图 15-1　一种由胞外信号分子激活的简单的胞内信号传递途径

信号分子结合受体蛋白（通常嵌在质膜内），从而激活由一系列的信号蛋白介导的胞内信号传递途径。最终，这些胞内信号蛋白中的一个或多个与靶蛋白相互作用，改变靶蛋白，从而使靶蛋白有助于改变细胞的行为

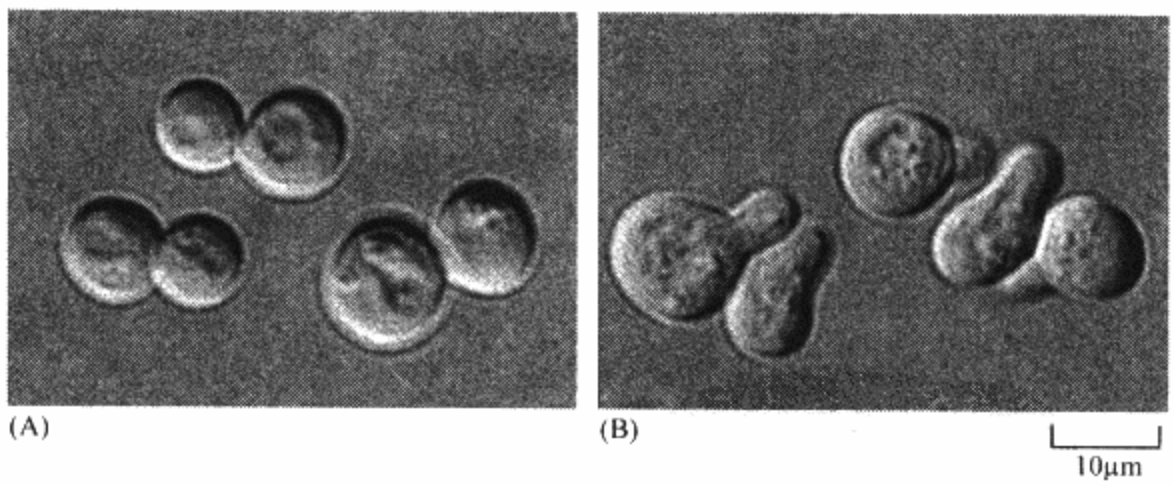


图 15-2　应答交配因子的芽殖酵母细胞

（A）细胞正常是球状的。（B）在对由相邻酵母细胞分泌的交配因子的应答中，酵母细胞产生对着因子源的突出，以准备交配（经 Michael Snyder. 许可）

用数百种信号分子来交流信息，这些信号分子包括蛋白质、小肽、氨基酸、核苷酸、类固醇、类视黄素、脂肪酸衍生物以及溶解的气体，如一氧化氮和一氧化碳等。大多数信号分子是由信号细胞通过胞吐的方式分泌到细胞外间隙。其他信号分子是通过穿膜扩散释放的，而有的信号分子在释放后，仍紧密结合在信号细胞的表面上。

无论信号的本质，靶细胞通过一种称为**受体（receptor）**的特定蛋白质发生反应。受体可

以特异结合信号分子，然后引发靶细胞的反应。胞外信号分子通常以非常低的浓度（一般≤10^{-8} mol/L）起作用，识别信号分子的受体。通常以高亲和力（亲和常数 $K_a \geqslant 10^8$ L/mol；图 3-44）结合。大多数情况下，这些受体是位于靶细胞表面上的跨膜蛋白。当它们结合胞外信号分子（配体）时，受体被激活并产生一串改变细胞行为的胞内信号。其他情况下，受体位于靶细胞内，信号分子必须进入细胞内激活受体：这需要信号分子足够小且疏水以便穿膜扩散（图 15-3）。

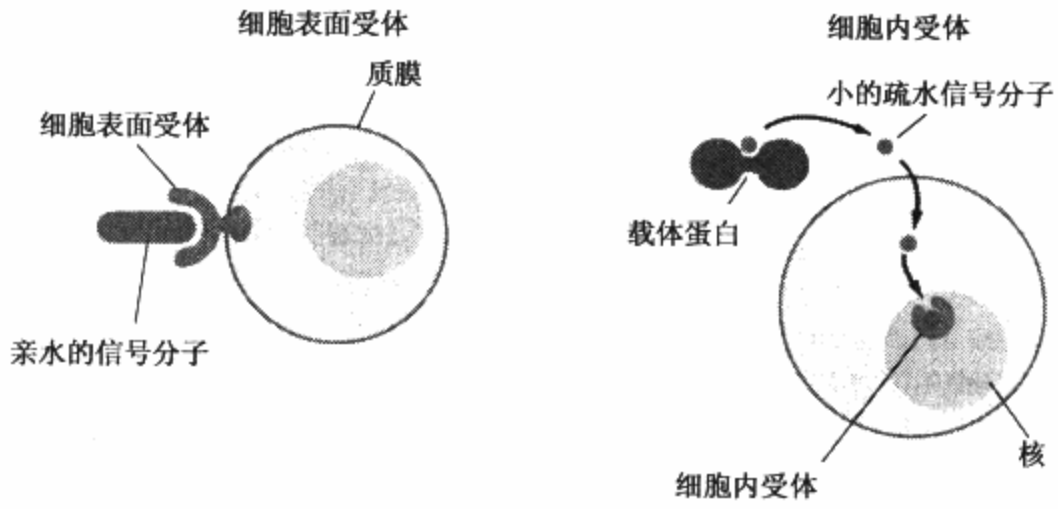


图 15-3　胞外信号分子与细胞表面受体或胞内受体的结合

大多数信号分子是亲水的，因此不能直接穿过质膜；相反，它们结合细胞表面受体，细胞表面受体再在靶细胞内产生一个或多个信号。相比之下，某些小信号分子扩散穿越质膜并与靶细胞内的受体结合，胞质内或细胞核内（如图所示）。许多这些小信号分子是疏水的，在水溶液中几乎不可溶。因此，当与载体蛋白结合时，它们在血流中或其他细胞外液中被运送，信号分子在进入靶细胞之前与载体蛋白解离

胞外信号分子可以近距离或远距离起作用

许多信号分子结合在信号细胞的表面上，只影响与之接触的细胞［图 15-4（A）］。这种**接触依赖的信号传递（contact-dependent signaling）**在发育和免疫应答中尤其重要。然而，大多数情况下信号分子是分泌的，分泌的信号分子可以被携带到远处，从而作用于远距离的靶细胞，或者它们作为**局部调质（local mediator）**，只影响信号细胞附近的细胞。后一种过程称为**旁分泌信号传递（paracrine signaling）**［图 15-4（B）］。对于只被传递到其正确靶细胞的旁分泌信号，分泌的信号分泌必须不能扩散太远；正因为如此，旁分泌信号经常迅速地被周围靶细胞吸收，被胞外酶降解，或者被胞外基质固定。

对于一个大且复杂的多细胞生物，短距离的信号传递本身并不足以协调细胞的行为。在这些生物中，成套的特化细胞进化出具有在身体的相距较远的部分之间交流信息的特殊功能。其中最复杂的是神经细胞或神经元；神经细胞通常伸展其长的突起（轴突），使它们能与远距离的靶细胞相接触。当来自环境或其他神经细胞的信号激活神经细胞时，神经细胞沿着其轴突迅速地传递电脉冲（动作电位）；当该脉冲到达轴突末端时，它导致那里的神经末梢分泌称为**神经递质（neurotransmitter）**的化学信号。这些信号是由称为化学突触的特化的细胞连接分泌的。化学突触的结构确保神经递质特异地传递到突破后的靶细胞［图 15-4（C）］。这种**突触信号转导（synaptic signaling）**的细节已在第 11 章中有介绍。

内分泌细胞（endocrine cell）是整体控制细胞行为的第二种特化的信号细胞。内分泌细

胞分泌称为**激素（hormone）**的信号分子到血流中，血流再将信号运载到身体内广泛分布的靶细胞［图 15-4（D）］。

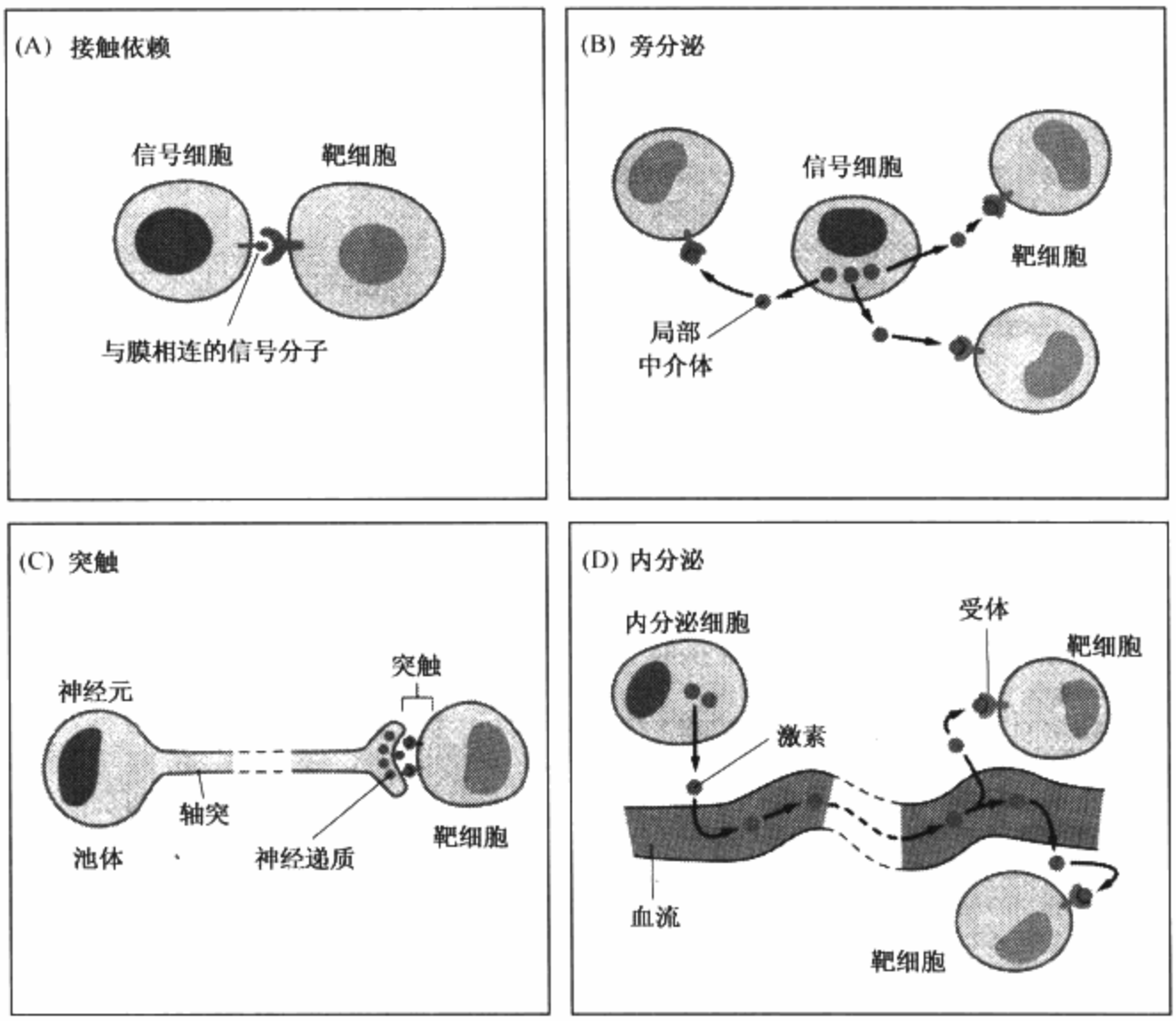


图 15-4　胞内信号传递的形式

（A）接触依赖的信号传递需要细胞处于直接的膜-膜接触。（B）旁分泌信号传递依赖于释放到细胞外间隙的信号，这些信号局部作用于相邻细胞。（C）突触信号传递是由神经元执行的，神经元沿着轴突传递电信号，并在突触处释放神经递质，突触经常位于远离细胞体的位置。（D）内分泌信号传递依赖于内分泌细胞，内分泌细胞分泌激素到血流中，随后激素广泛地分布于身体的各个部位。许多同种类型的信号分子被用于旁分泌、突触和内分泌信号传递；重要的差别是信号被传递到它们的靶标的速度和特异性

图 15-5 比较了动物内分泌细胞和神经细胞协调细胞行为的机制。因为内分泌信号传递依赖于扩散和血流，所以它相当缓慢。相比之下，突触信号传递能更快而且更准确。神经细胞可通过电冲动长距离传递信息，电冲动每秒可达 100m；神经递质一旦从神经末梢释放出来，它扩散到靶细胞不足 100nm，该过程只需百万分之一秒。内分泌和突触信号传递的另一个区别是：血流和体液大大地稀释激素的浓度，因此激素必须能在很低浓度（通常$< 10^{-8}$mol/L）起作用；而神经递质很少被稀释，可达高的局部浓度。例如，活化的神经肌肉接头的突破间隙中的乙酰胆碱浓度大约是5×10^{-4}mol/L。相应地，神经递质受体对其配体具有相当低的亲和力，这意味着神经递质能迅速地与受体解离从而终止反应。此外，在从神经末梢释放后，神经递质很快被突触间隙去除掉，或者通过破坏它的特异水解酶，或者通过膜转运蛋白将其泵回神经末梢或周围腺细胞。因此，与内分泌信号传递相比，突触信号传递在时间和空间上更为准确。

对胞外信号的应答速度不仅取决于信号转导的机制，而且取决于靶细胞应答的本质。当

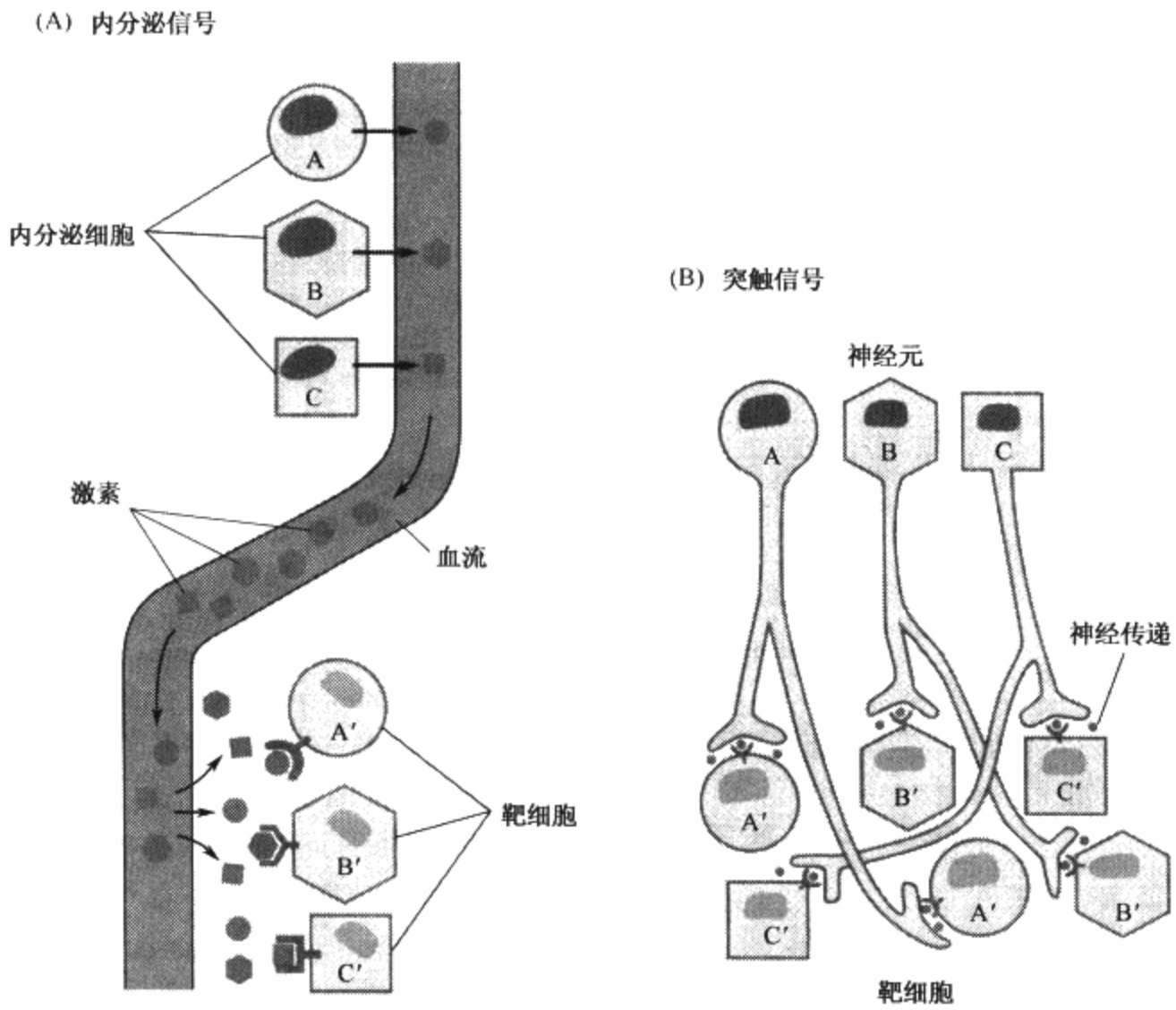


图 15-5　内分泌和突触信号传递的差异

在复杂的动物中，内分泌细胞和神经细胞一起作用以协调数亿个细胞的不同活性。不同的内分泌细胞必须使用不同的激素特异地与它们的靶细胞交流信息，而不同的神经细胞能使用相同的神经递质，仍能以高度特异的方式交流信息。(A) 内分泌细胞分泌激素到血液中，激素只传递信号给识别它们的特异的靶细胞。这些靶细胞具有结合特异激素的受体，细胞从细胞外液中“拉”激素。(B) 相比之下，在突触信号传递中，特异性是由神经细胞与接收信号的特异靶细胞之间突触接触引起的。通常，只有与神经细胞通过突触交流信息的靶细胞才与神经末梢释放的神经递质接触（尽管某些神经递质以旁分泌模式作用，充当局部介质，影响该区域内的多个靶细胞）

细胞应答只需细胞中已存在蛋白质的变化时，该反应可在数秒或甚至百万分之几秒内发生。然而，当细胞应答需要基因表达的改变和新蛋白质的合成时，无论什么信号传递的模式，它通常需要数小时。

自分泌信号传递能协调相同细胞群的命运

目前所介绍的所有信号传递形式都允许一个细胞影响另一个细胞。经常信号细胞和靶细胞是不同的细胞类型。然而，细胞也能传递信号给其他相同类型的细胞和它们自己。在这种**自分泌信号传递（autocrine signaling）**中，细胞分泌能与其自身的受体结合的信号分子。例如，在发育过程中，一旦细胞被指定一条特殊的分化途径细胞，就开始分泌信号给自身以强化该发育命运。

当周围相同类型的细胞同时进行自分泌信号传递时，自分泌信号传递是最有效的；自分泌信号传递可能被用来促使同种细胞群体采取相同的发育命运。因此，自分泌信号传递被认为是在早期发育过程中所观察到的“集团效应”的一种可能机制；在早期发育过程中，同种

细胞群体能对某个分化诱导信号做出应答，但单个独立的同种细胞却不能（图 15-6）。

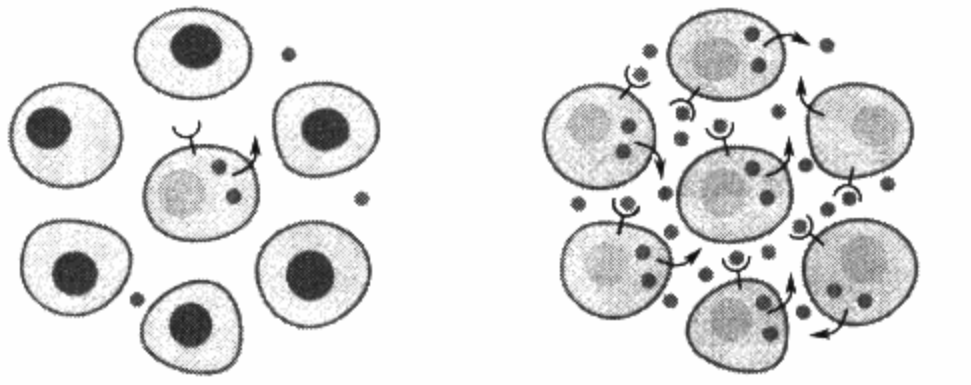


图 15-6　自分泌信号传递

与单个细胞相比，一群相同的细胞产生更高浓度的分泌信号。当该信号回去结合相同细胞类型时，该信号促进细胞作为一个集体协调反应

不幸的是，癌细胞经常采用自分泌信号传递以克服对细胞增殖和存活（以后介绍）的正常控制。通过分泌作用细胞自身受体的信号，癌细胞能促进其自身的存活和增殖，因此能在同种正常细胞不能生存和增殖的地方生存和增殖。对正常细胞的这种危险破坏是如何发生的，将在第 23 章中介绍。

间隙连接使信号转导信息能被周围细胞共享

另一种协调周围细胞行为的方式是通过**间隙连接（gap junction）**。间隙连接是特化的细胞-细胞连接，在紧密排列的细胞膜之间形成，并通过狭窄的水溶性通道直接连接相连细胞的胞质（图 19-15）。通道允许小的胞内信号分子（胞内调质）的交换（如后面介绍的 Ca^{2+} 和 cAMP），而不允许大分子（如蛋白质或核酸）的交换。因此，通过间隙连接的细胞能直接相互交流信息，而不需要克服质膜所造成的障碍（图 15-7）。

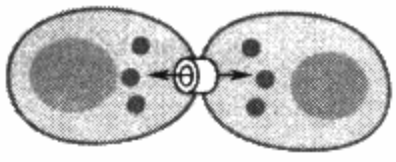


图 15-7　通过间隙连接的信号传递

由间隙连接连接的细胞共享小分子，包括小胞内信号分子，因此能以协调的方式对胞外信号做出应答

在第 19 章中将介绍，组织中的间隙连接模式可用胞内电极或小的水溶性染料的微注射来显示。这种研究有力地表明正在发育的胚胎间隙连接在这些细胞之间所发生的信号传递过程中起重要作用。例如，某个特定间隙连接蛋白质缺陷的小鼠和人的心脏发育有严重缺陷。同刚介绍的自分泌信号传递一样，间隙连接有助于相似类型的邻近细胞协调它们的行为。然而，现在仍不知道哪个特定的小分子是重要的穿越间隙连接的信号载体，动物发育过程中间隙连接的特定功能仍不清楚。

每个细胞被设定程序对特异组合的胞外信号分子做出反应

多细胞生物的典型细胞在其周围环境中接触数百个不同的信号。这些信号可以是可溶的，与胞外基质结合，或与周围细胞表面结合，它们的作用方式有数百万种组合。细胞必须根据其特异的特征有选择地应答信号，细胞特异的特征是在细胞分化和发育过程中获得的。细胞可以被编程通过分化应答一种组合的信号。通过繁殖应答另一种组合的信号，通过使某种特化功能（如收缩或分泌）应答另一种组合的信号。

复杂动物的大多数细胞也被编程只依赖于某特异组合的信号存活。当去掉这些信号（如在培养皿），细胞激活自杀程序，杀死自己，这一过程称为细胞程序性死亡或细胞凋亡（图15-8）。因为不同类型的细胞需要不同组合的存活信号，所以每种细胞类型被限制在体内的不同环境。进行细胞凋亡的能力是动物细胞的基本性质，将在第17章中介绍。

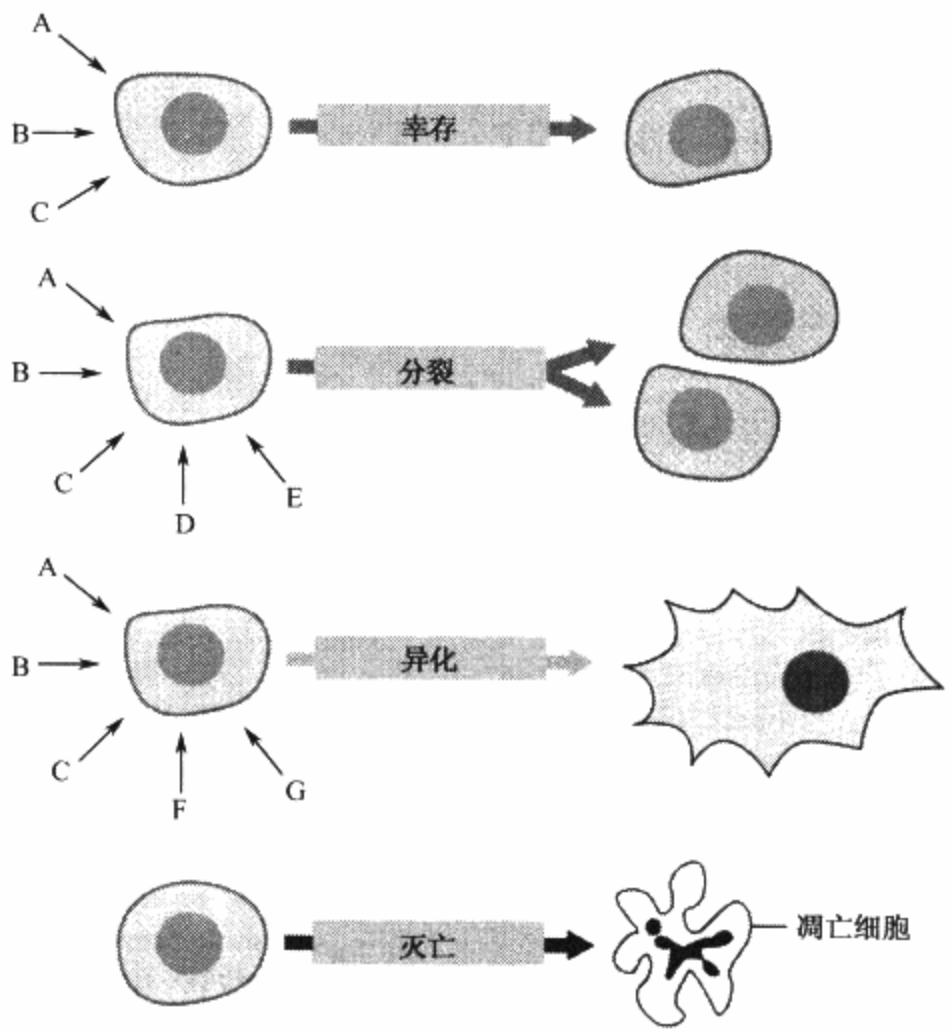


图 15-8　动物细胞对多个胞外信号的依赖

每种细胞类型展示一套受体，这一套受体使细胞能对一套相应的信号分子做出应答。这些信号分子以组合的方式作用以调控细胞行为。如图所示，单个细胞需要多个信号以存活（蓝色箭头），需要另外的信号以分裂（红色箭头）或分化（绿色箭头）。如果去掉适当的存活信号，细胞将进行一种称为细胞程序性死亡或细胞凋亡的细胞自杀形式

理论上，动物所产生的数百种信号分子能用来产生几乎无数种信号组合。使用这些组合来控制细胞行为，使得动物能通过使用有限种类的信号分子以高度特异的方式控制其细胞。

不同细胞能对相同胞外信号分子做出不同的应答

细胞对其环境应答的特异方式不同。根据细胞具有的受体蛋白，细胞对环境应答的特异方式不同，受体蛋白决定了细胞能应答的特定信号。根据细胞整合并翻译其接受的信号的胞内机器，细胞对环境应答的特异方式不同（图15-1）。因此，单一信号分子经常对靶细胞起不同的作用。例如，神经递质乙酰胆碱促进骨骼肌细胞的收缩，但它降低心肌细胞的收缩率和收缩力。这是因为骨骼肌的乙酰胆碱受体蛋白不同于心肌细胞的受体蛋白。但是受体的差异并不总能解释不同的效应。在许多情况下，同一信号分子结合相同的受体蛋白在不同类型的靶细胞中仍产生完全不同的应答，这反映了与受体偶联的胞内机器的差异（图15-9）。

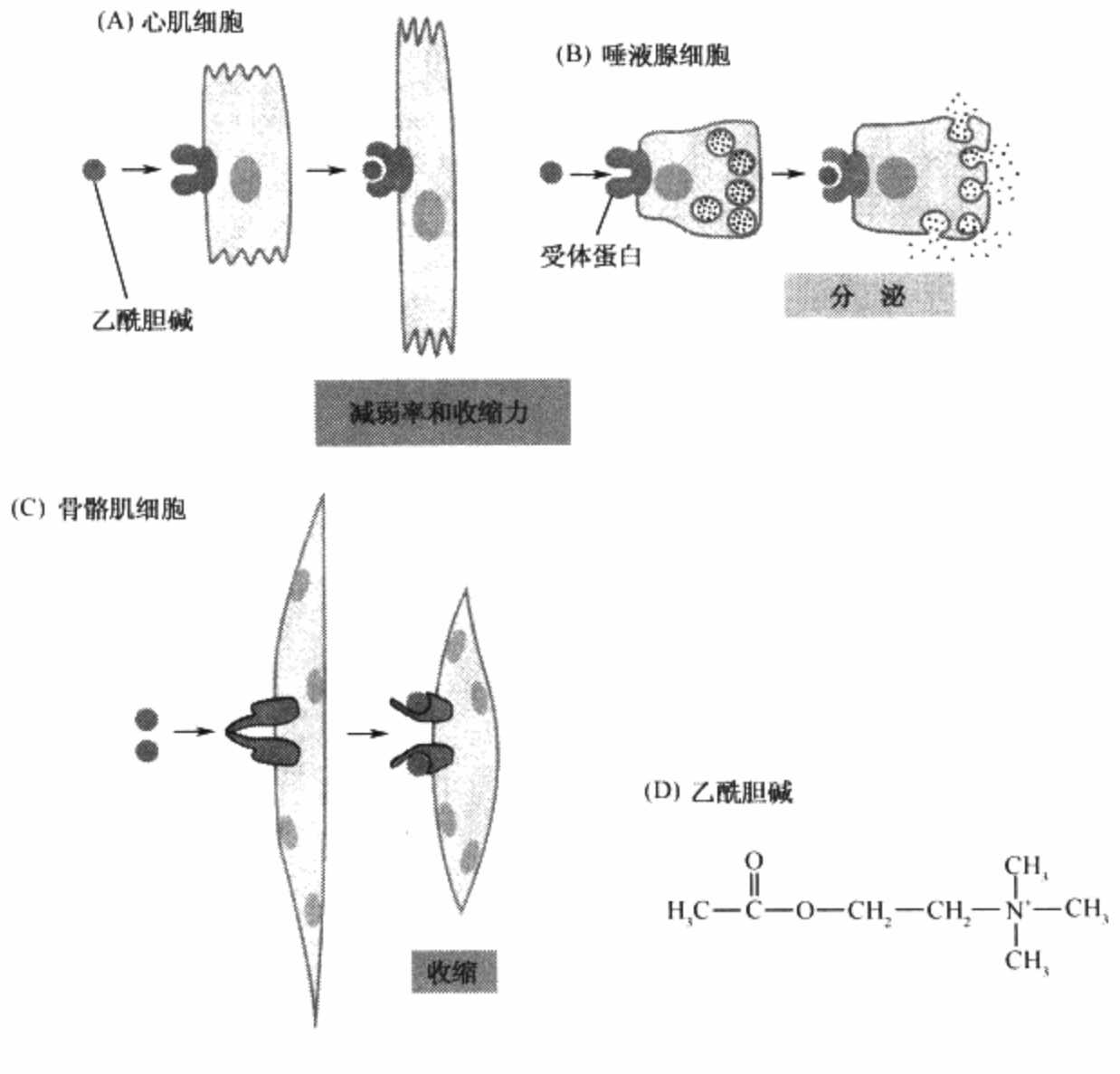


图 15-9　由神经递质乙酰胆碱诱导的不同反应

不同细胞类型被特化以不同方式去应答乙酰胆碱。（A）和（B）对于这两种细胞类型，乙酰胆碱结合相似的受体蛋白，但产生的胞内信号被特化为不同功能的细胞转换为不同的反应。（C）该肌肉细胞产生一种不同类型的乙酰胆碱受体，该受体产生不同于（A）和（B）中所示受体的胞内信号，导致不同的效应。（D）乙酰胆碱的结构

只有当分子寿命短时，分子的浓度才能迅速被调节

根据信号传递时所产生的变化，我们能很自然想到信号传递系统。但考虑当信号去除时发生的事件也同样重要。在发育过程中，瞬时信号经常产生持久的效应：通过细胞记忆机制(讨论见第 7 章和第 21 章)，瞬时信号引发细胞发育中无限持续的变化。然而，在大多数情况，当信号停止时成体组织中的反应逐渐消退。该效应是瞬时的，因为信号是通过改变一套不稳的、持续进行循环的分子来发挥效应的。因此，一旦信号关闭，旧分子被新分子替换消灭了信号的作用。因此，细胞对信号去除的应答速度取决于信号所影响的分子的破坏速率或循环速率。

尽管不明显，该循环速率也决定信号打开后应答的敏捷性。例如，假设两个胞内信号分子 X 和 Y，一般都维持每细胞 1000 个分子的浓度。分子 Y 以每秒 100 个分子的速率合成和降解。每个分子的平均寿命是 10s。分子 X 的循环速率是 Y 的 1/10，它的合成和降解速率是每秒 10 个分子，所以每个分子的平均寿命是 100s。如果作用于细胞的信号促进 X 和 Y 的合成速率增加 10 倍，而不改变分子寿命，1s 后 Y 的分子浓度将增加近 900 个/个细胞（10×100－100），而 X 的分子浓度增加近 90 个/个细胞。事实上，在分子合成速率突然增加或降

低后，分子从旧的平衡浓度到新的平衡浓度变化一半，所需的时间等于其正常的半衰期，即当所有合成停止时等于分子浓度降到一半时所需的时间（图 15-10）。

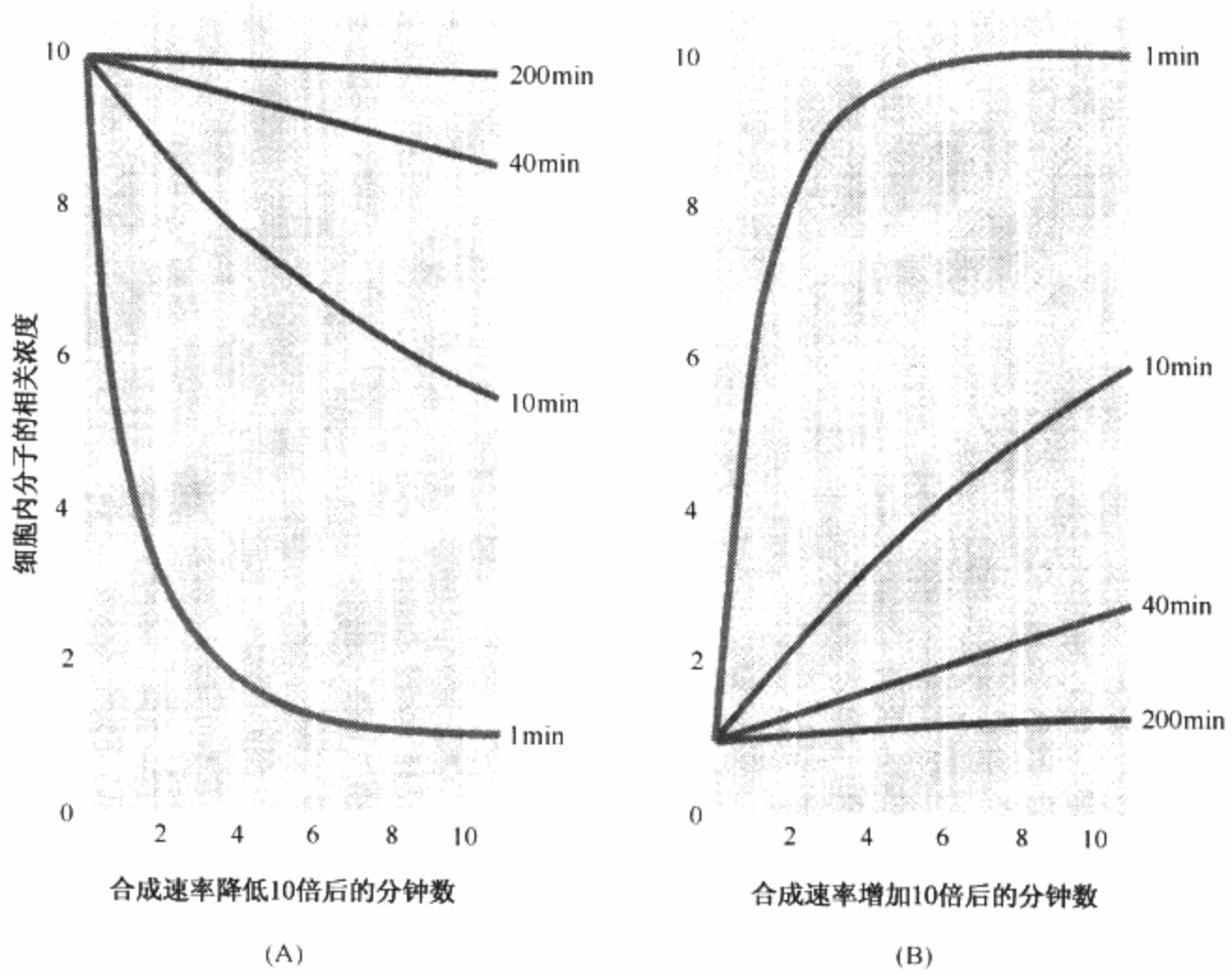


图 15-10　快速循环的重要性

该图表明当胞内分子的合成速率是降低或增加 10 倍时，胞内分子浓度与不同的循环时间之间预测的相对比。在两种情况下，那些正常情况下被迅速降解（红线）的分子的浓度变化很快，而那些正常情况下被缓慢降解（绿线）的分子的浓度变化相应地更慢。右侧的数字（蓝色）是每个不同分子假定的半衰期

相同原则适用于蛋白质和小分子，以及胞外基质和胞内的分子。许多胞内蛋白具有短的半衰期。某些存在不到 10min。在大多数情况下，这些具有关键调控作用的蛋白质，它们的浓度可以通过它们的合成速率得到快速的调控。相同地，作为快速信号传递过程的部分发生的任何蛋白质的共价修饰（更常见的是将磷酸基因加到氨基酸侧链）必须不断快速地去除以实现快速的信号传递。

我们将详细介绍通过细胞表面受体起作用的信号传递过程的某些分子事件。但正如下个例子所示的，这些原则基本适用。

一氧化氮通过与靶细胞内的酶直接结合进行信号传递

尽管大多数胞外信号是亲水性分子，与靶细胞表面受体结合，但某些信号分子是足够疏水的和（或）小的，容易穿越靶细胞质膜。一旦进入细胞，它们直接调控特异的胞内蛋白质的活性。气体 NO 是一个重要且值得注意的例子，它在动物和植物中充当信号分子。在哺乳动物中，NO 的其中一个功能是调节平滑肌的收缩。例如，乙酰胆碱是由血管壁的自主神经释放，它导致血管壁的平滑肌松弛。乙酰胆碱是通过诱导附近上皮细胞合成并释放 NO 间接起作用的，然后 NO 将信号传递给下面的平滑肌细胞让它们松弛。NO 对血管的这种作用解释了硝化甘油的作用机制，硝化甘油已用来治疗心绞痛患者大约 100 年，心绞痛是指由于心

肌的供血不足所导致的疼痛。硝化甘油转化为 NO，NO 松弛血管，这降低了心脏的负荷，因此降低了心肌的氧气需求。

许多种神经细胞利用 NO 气体，将信号传递给周围细胞。例如，由阴茎自主神经释放的 NO 可导致局部血管的扩张，从而引起阴茎勃起。NO 也由激活的巨细胞和嗜中性细胞产生，作为局部调质帮助细胞杀死入侵的微生物。在植物中，NO 参与对伤害或感染的防御反应。

NO 气体是由 NO 合酶催化的精氨酸脱氨产生。因为 NO 自由穿膜，溶解的 NO 迅速地扩散出生成细胞，进入到周围细胞。NO 只起局部作用，因为它在胞外具有短的半衰期（5～10s），在胞外基质 NO 很快被氧和水转化为硝酸盐和亚硝酸盐。在许多靶细胞（包括上皮细胞）中，NO 结合鸟苷酸环化酶活性位点中的铁，激活该酶产生小的胞内调质 cGMP［cGMP 我们以后介绍］（图 15-11）。NO 能在数秒内发生作用，因为 cGMP 的正常循环速率高，磷酸二酯酶迅速将 cGMP 降解为 GMP，持续地平衡由 GTP 在鸟苷酸环化酶的作用下产生的 cGMP。伟哥抑制阴茎中的 cGMP 磷酸二酯酶，因而局部神经末梢诱导 NO 的产生后增加维持高水平 cGMP 的时间，GMP 再维持血管松弛和阴茎勃起。

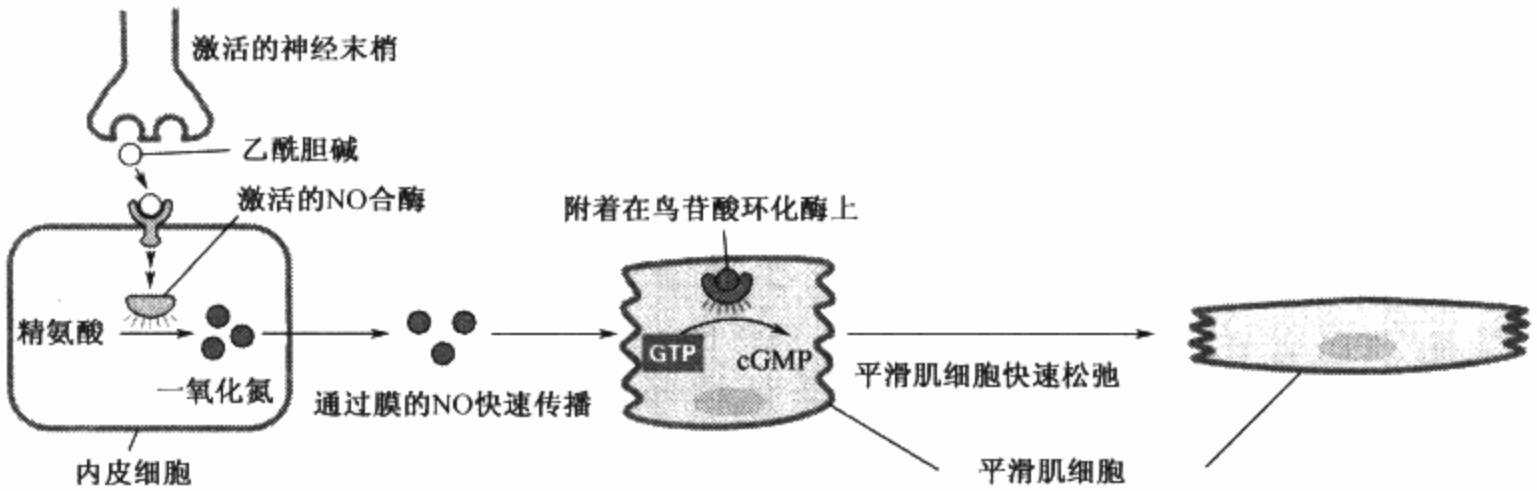


图 15-11　一氧化氮在血管壁平滑肌松弛中的作用

血管壁中神经末梢释放的乙酰胆碱激活血管壁上皮细胞内的 NO 合酶，导致上皮细胞产生 NO。NO 扩散出上皮细胞并进入下面的平滑肌细胞，在平滑肌细胞 NO 结合并激活鸟苷酸环化酶产生 cGMP。cGMP 引发导致平滑肌松弛的反应，增加了通过血管的血流量

一氧化碳（CO）是充当胞内信号的另一种气体。它的作用方式和 NO 一样，是激活鸟苷酸环化酶。CO 和 NO 不是唯一能直接穿过靶细胞膜的气体。一群小的疏水性非气体的激素和局部调质也通过该方式进入靶细胞。但不是与酶结合，而是与直接调控基因转录的胞内受体蛋白结合。这一点我们接下来介绍。

核受体是配体激活的基因调控蛋白

许多疏水性信号小分子扩散直接穿过靶细胞膜，并与胞内受体蛋白结合。这些信号分子包括类固醇激素、甲状腺素、类视黄素和维生素 D。尽管它们在化学结构（图 15-12）和功能上差异很大，但是它们作用机制相似。当这些信号分子结合其受体蛋白，它们激活受体，受体结合 DNA 从而调控特异基因的表达。这些受体都与结构相关，是**核受体超家族**的一部分。这个大的超家族也包括由胞内代谢物所激活的某些受体蛋白。许多家族式成员只通过 DNA 测序得到鉴定，仍不知道它们的配体。因此，这些蛋白质被称为孤儿核受体。尽管人不到 50 个核受体基因，但是线虫 *C. elegans* 中 1%～2%的基因编码核受体基因，这说明了核受体在某些动物中的重要性（图 7-114）。

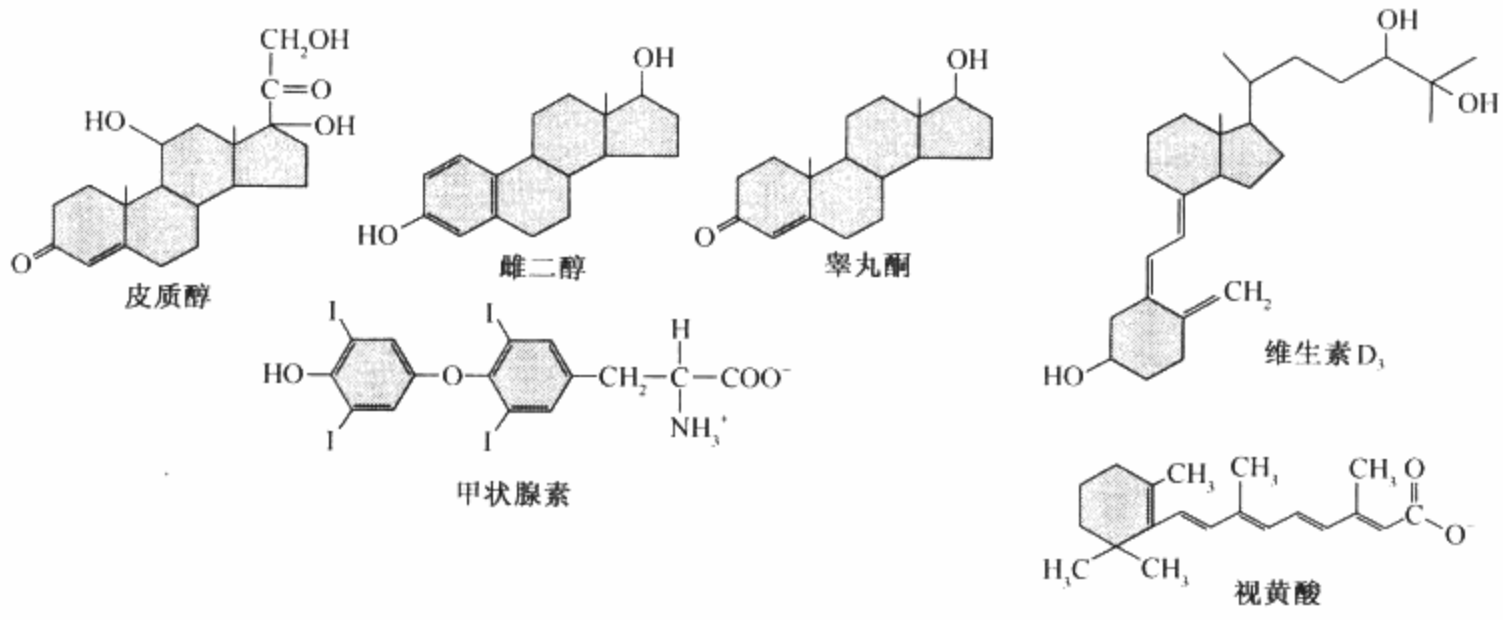


图 15-12　某些结合核受体的信号分子

注意所有的与核受体结合的信号分子是小的和疏水的。维生素 D_3 的活性的羟基化形式如图所示。雌二醇和睾丸酮是甾类性激素

类固醇激素包括皮质醇、甾类性激素、维生素 D（脊椎动物）以及脱皮激素脱皮素（昆虫），这些激素都是由胆固醇合成的。皮质醇是在肾上腺皮层合成的，影响许多种细胞的代谢。甾类性激素是在睾丸和子宫中合成的，它们决定区分雄性和雌性的第二性征。维生素 D 是在应答阳光的过程在皮肤中合成；它在肝或肾中转变为活性形式后，调控 Ca^{2+} 的代谢，促进钙吸收，降低肾中钙的外排。甲状腺素是由酪氨酸合成的，其作用是增加许多种细胞代谢速率。而类视黄素（如类视黄酸）是由维生素 A 合成的，它作为局部调质在脊椎动物发育中起重要作用。尽管这些信号分子都比较不溶于水，它们通过结合特定的载体蛋白而变得可溶，从而可以在血液和其他胞外液体中运送，在进入靶细胞前，它们便与载体蛋白解离(图 15-3)。

除了传递信号给靶细胞的方式存在根本差异外，大多数水不溶性信号分子在血流或组织液中持续的时间也不同于水溶性信号分子。大多数水溶性激素在进入血液后数分钟内就被去除和（或）降解，局部调质和神经递质从胞质基质中被去除（数秒或百万分之几秒内）。然而，甾类激素在血液中持续数小时，甲状腺素持续数天。因此，水溶性信号分子通常介导短期反应，而水不溶性信号分子介导持续更长时间的反应。

甾类激素、甲状腺素、类视黄醇以及维生素 D 的胞内受体都可与由配体所调节基因相临近的特异 DNA 序列结合。某些受体（如皮质醇的受体）原位于细胞质中，只有同配体结合后才进入细胞核；其他受体（如甲状腺素和类视黄素受体）位于细胞核中，甚至没结合配体时就结合 DNA。不管哪种情况，没有活性的受体与抑制蛋白复合体解散，配体结合也导致受体与诱导基因转录的辅激活蛋白结合（图 15-13）。通常激活基因转录是分两步进行的：在 30min 内先直接诱导少数特异基因转录，此谓初级反应；这些基因的蛋白质产物再激活其他基因产生延迟的次级反应。由此可见，一种简单的激素可以引起极其复杂的不同基因表达模式（图 15-14）。

类固醇和甲状腺素、维生素 D、类视黄素所引起的靶细胞反应，与胞外信号分子引起的反应一样，是由靶细胞的类型和信号分子的本质决定的。许多种细胞具有相同的胞内受体，但受体所调节的基因因细胞类型而异。这是因为要激活真核基因转录，不只需要一种基因调节蛋白结合到基因上。因此，一个细胞内受体要激活一个基因的表达，必须和其他一些基因调控蛋白组成正确的组合，许多组合具有细胞类型特异性。由此可见，上述激素要在动物中

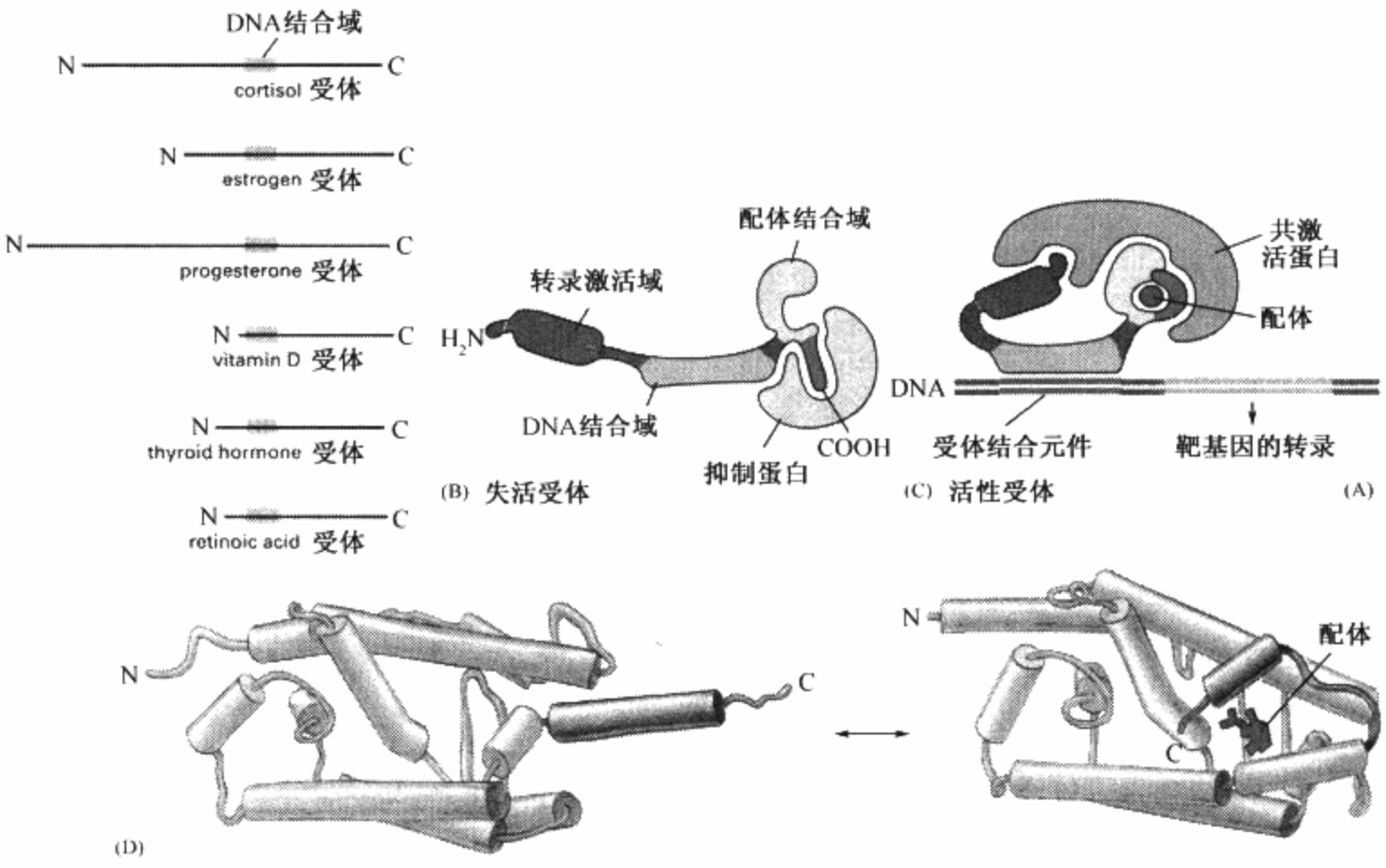


图 15-13　核受体超家族

所有的细胞核激素受体以同二聚体或异二聚体结合 DNA，但为了简单起见在这里以单体显示它们。（A）受体都具有相关的结构。短的 DNA 结合结构域以绿色标明。（B）活性状态的受体蛋白结合抑制蛋白。结构域交换实验表明这些受体中的许多配体结合、转录激活和 DNA 结合结构域能充当可交换的模件。（C）配体与受体结合导致受体的配体结合结构域环绕配体夹紧关闭，抑制蛋白质解离，以及辅助激活蛋白结合受体的转录激活结构域，从而增强基因转录。（D）具有（右侧）或没有（左侧）配体结合的配体结合结构域的三维结构。注意蓝色的螺旋充当盖子，当配体结合时盖子关上，将配体俘获在其中

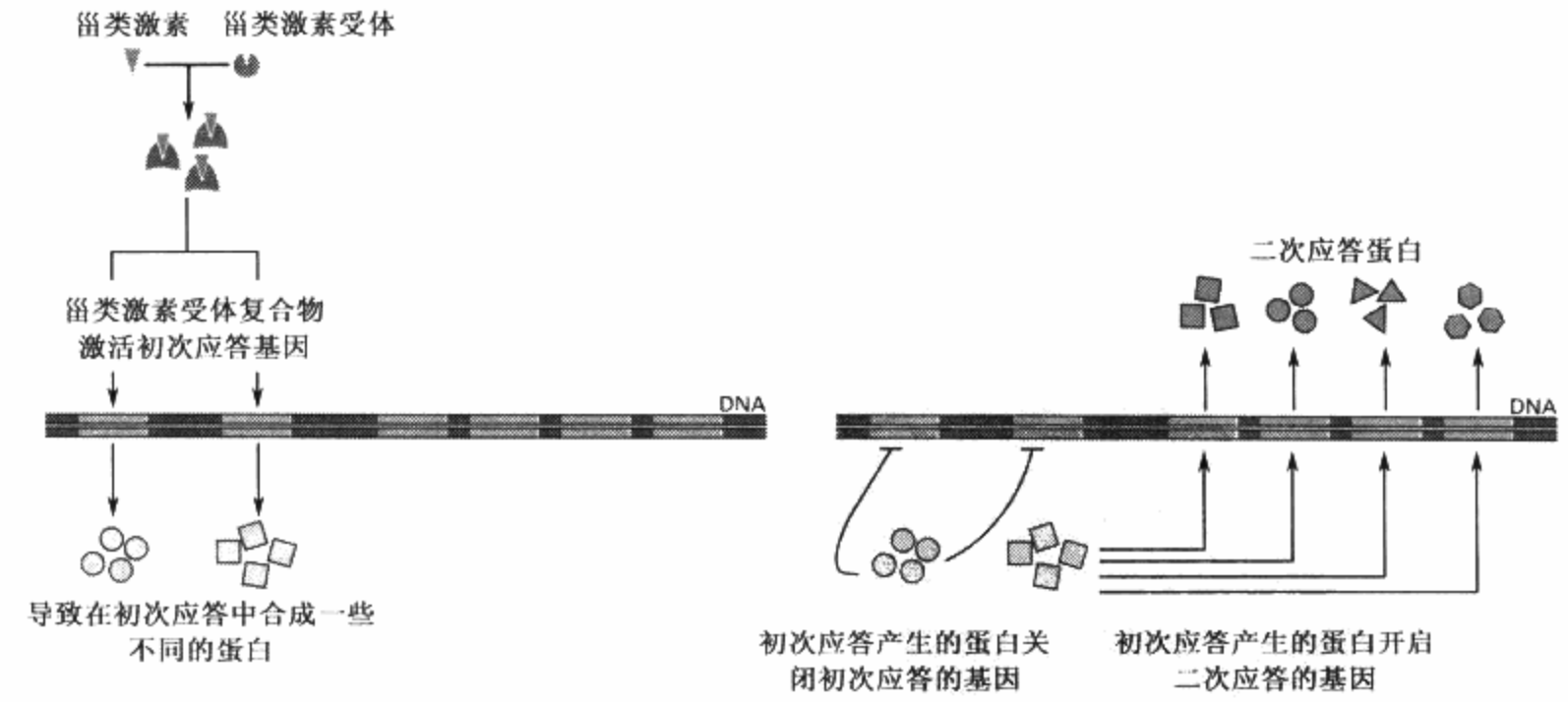


图 15-14　细胞核激素受体的激活诱导的细胞反应

（A）早期的初次应答。（B）延迟的二次应答。该图说明细胞核激素受体对甾类激素的应答，但相同的原则适用于所有的激活该家族受体蛋白的配体。某些初次应答蛋白打开二次应答基因，而其他关闭初次应答基因。初次和二次应答基因的实际数量要多于图中所示。与预期的一样，抑制蛋白质合成的药物抑制二次应答基因的转录，但不抑制初次应答基因的转录，使这两类基因转录反应容易被区分

引起典型反应必须具备两个条件：①细胞中含有激素信号的受体；②细胞含有不同组合的其他具有细胞类型特异的基因调节蛋白，这些基因调节蛋白与激活的受体共同影响特异基因的转录。

核受体和其他基因调节蛋白调控特异基因转录的分子机制已在第 7 章中做过介绍。

三大类的细胞表面受体蛋白是离子通道偶联受体、G 蛋白偶联受体以及酶联受体

前面介绍过，所有亲水性信号分子（包括神经递质和所有信号蛋白）都是和靶细胞表面的特异受体蛋白结合。这些细胞表面受体蛋白起信号转换的作用，同胞外配体结合后，可将胞外信号转变为胞内信号，从而改变靶细胞的行为。

根据信号转导机制的不同，大多数细胞表面受体可分为三类。**离子通道偶联受体（ion-channel-linked recptor）**，也称为递质门控离子通道或互变异构受体，参与电兴奋细胞间［图 15-15（A）］突触信号的快速传递。这种信号传递是由少量神经递质介导的。受体与神经递质结合后，构象发生改变，通道瞬时被打开或关闭，从而改变了质膜的离子通性，使突触后

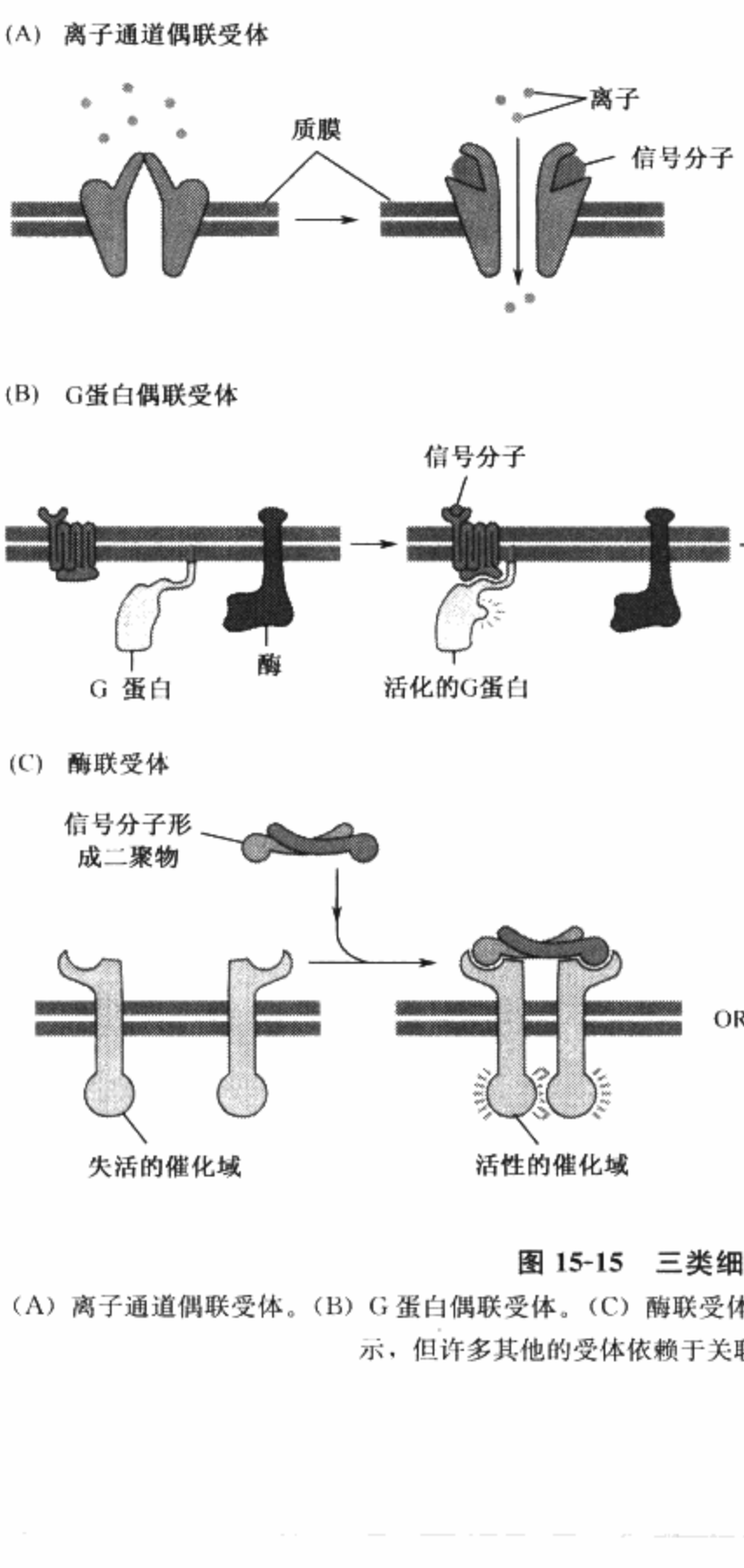


图 15-15　三类细胞表面受体

（A）离子通道偶联受体。（B）G 蛋白偶联受体。（C）酶联受体。尽管许多酶联受体具有内在的酶活性，如图的左侧所示，但许多其他的受体依赖于关联的受体，如图的右侧所示

细胞发生兴奋。离子通道偶联受体是一大类的同源的、多次跨膜蛋白。因为它们已在第 11 章中详细介绍，因此我们在此不再做进一步介绍。

G 蛋白偶联受体间接调节结合在质膜上的靶蛋白的活性，靶蛋白可以是一种酶或一种离子通道。受体与该靶蛋白之间的相互作用是由第三种蛋白质介导的，该蛋白质称为三体 GTP 结合蛋白（G 蛋白）[图 15-15（B）]。如果靶蛋白是一种酶，被激活后可改变一种或多种胞内调质的浓度；如果靶蛋白是一种离子通道，被激活后可改变质膜的离子通透性。胞内调质又可改变细胞中其他信号蛋白的性能。所有 G 蛋白是一大类同源的 7 次跨膜的蛋白质。

酶联受体激活后直接具有酶的性质，或者可直接与其激活的酶结合 [图 15-15（C）]。酶联受体是一次跨膜蛋白，具有胞外的配体结合位点和胞内的催化或酶结合位点。与其他两类受体相比，酶联受体在结构上是异源的。然而，大多数受体是蛋白激酶，或与蛋白激酶结合；配体与受体结合后，导致靶细胞内特异蛋白质的磷酸化。

某些细胞表面受体并不属于上述三类受体。某些受体依赖于胞内蛋白质降解将信号传递给细胞。我们将在详细介绍 G 蛋白偶联受体和酶联受体的作用方式后介绍这些受体。首先介绍细胞表面受体进行信号传递的某些基本原理。

大多数激活的细胞表面受体通过小分子和胞内信号蛋白网络传递信号

由 G 蛋白偶联受体或酶联受体在细胞表面接收信号通过小的和大的胞内信号分子组合传递到细胞内部。所产生的胞内信号传递最终改变靶蛋白，这些靶蛋白负责改变细胞行为（图 15-1）。

小的胞内信号分子称为**胞内小调质**或**第二信使**（“第一信使”是胞外信号）。受体激活时产生大量第二信使，第二信使很快从其产生的地方扩散出去，将信号传递到细胞的其余部分。某些第二信使是水溶性的，可在胞质中扩散；而其他第二信使（如二酰基甘油）是脂溶性的，可在质膜的表面上扩散。无论哪种情况，第二信使通过结合和改变特定的信号蛋白或靶蛋白的性能从而传递信号。

大的胞质信号分子是**胞内信号蛋白**。许多信号蛋白通过激活信号传递链中的下一个信号蛋白或产生胞内小调质将信号传递到细胞内。尽管许多不只归于一类，这些信号蛋白可根据特定功能分类（图 15-16）：

1. 传递蛋白只将信号传递给信号传递链中的下一个信号组分。
2. 信使蛋白将信号从细胞的一个部分运送到另一个部分，如从细胞质到细胞核。
3. 衔接蛋白连接一个信号蛋白与另一个信号蛋白，本身并不传递信号。
4. 扩增蛋白通常是酶或离子通道，通过产生大量的胞内小调质或激活大量的下游胞内信号蛋白从而大大地放大它们所接受的信号。当一条信号传递链中存在多个放大步骤时，该信号传递链经常被称为**信号传递级联反应（signaling cascade）**。
5. 转导蛋白将信号转化成不同的形式，合成 cAMP 的酶便是一个例子；它既转化信号，又放大信号，因而充当转导蛋白和扩增蛋白。
6. 分支蛋白将一个信号途径的信号传递到另一个信号途径。
7. 整合蛋白接收来自两个或多个信号途径的信号并整合这些信号从而传递一个信号。
8. 潜在基因调控蛋白在细胞表面被激活的受体激活，从而迁移到细胞核激活基因转录。

如图 15-16 中蓝色所示，其他种胞内蛋白也在胞内信号传递中起重要作用，调谐蛋白修饰胞内信号从而调节信号传递的强度。锚定蛋白通过将信号蛋白固定在质膜或细胞骨架上，维持特异信号蛋白在细胞内的准确位置。支架蛋白是衔接和（或）锚定蛋白，将多个信号蛋

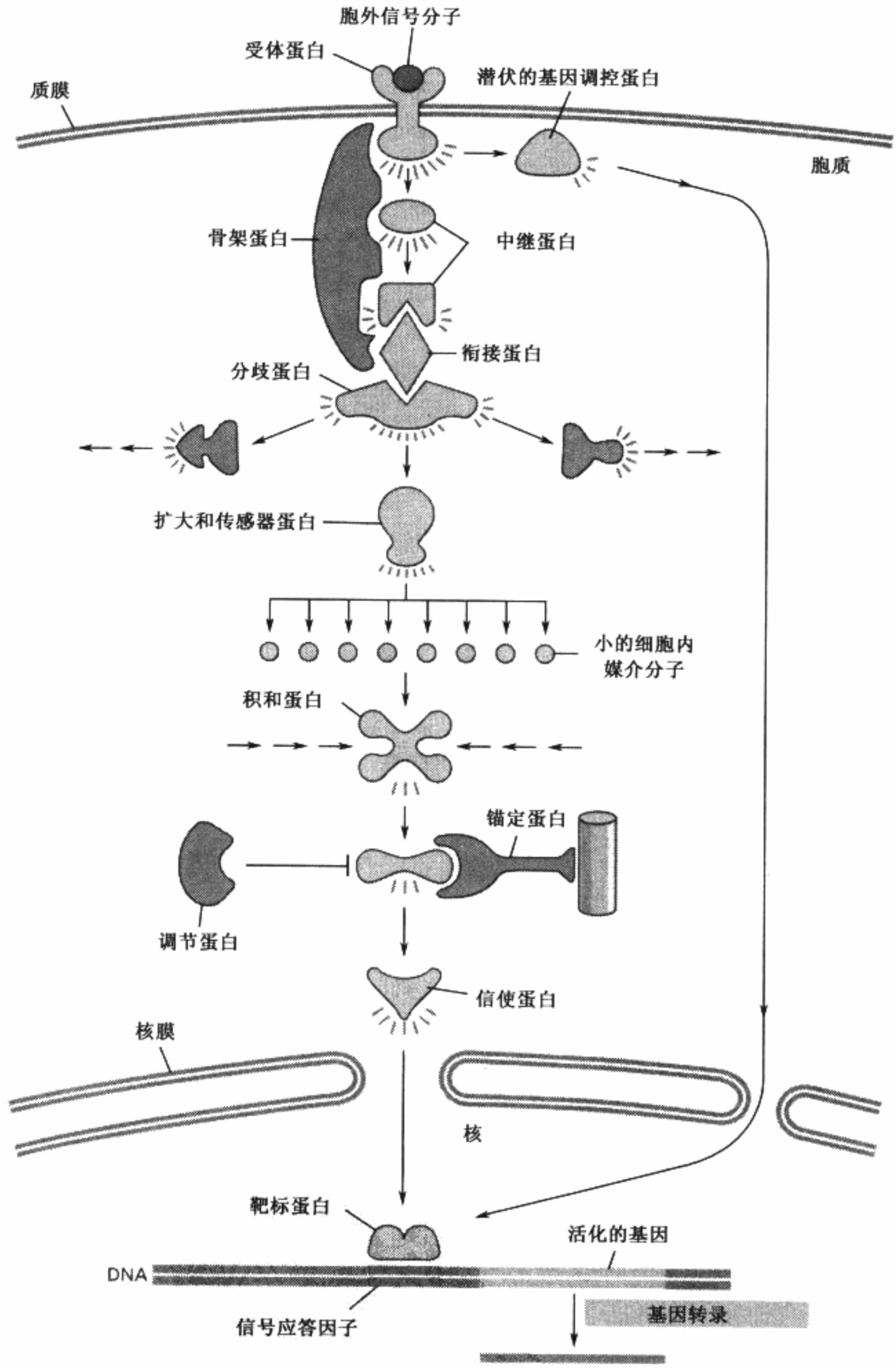


图 15-16　沿着一条从细胞表面受体到细胞核的信号传递途径的不同的胞内信号蛋白

在这个例子中，一系列的信号蛋白和小的胞内调质将胞外信号传递到细胞内，导致基因表达的改变。信号被扩增、改变（转导）和重新分布。许多步骤能被其他的胞外和胞内信号调节，所以一个信号的结果依赖于影响细胞的其他因子（图 15-8）。最后，信号传递途径激活（或失活）改变细胞行为的靶蛋白。在这个例子中，靶标是基因调控蛋白

白结合在一个功能复合体中，并经常将它们固定在特定的位置。

某些胞内信号蛋白起分子开关的作用

许多胞内信号蛋白的功能类似**分子开关（molecuar switch）**：当接受信号后信号蛋白从无活性状态转换成激活状态，另一过程关闭信号蛋白。前面我们已介绍过，关闭与开启信号传递同样重要。在信号传递完后，如果信号传递途径要恢复原来状态从而准备传递另一个信号，那么该途径中每个活化的分子必须恢复为原来的无活性状态。

尽管根据作用方式的不同，分子开关分为两大类，但都是磷酸基团的获得与丢失决定蛋白质是有活性或无活性。由磷酸化激活或失活的蛋白质构成最大的一类分子开关（讨论见第3章）。对于这些蛋白质，蛋白激酶通过加一个或多个磷酸基团到信号蛋白将开关扳向一个方向；蛋白磷酸酶通过从信号蛋白上去除磷酸基团将开关扳向另一个方向［图 15-17（A）］。据估计，在任何给定的时刻，真核细胞的 1/3 蛋白质被磷酸化。

由磷酸化控制的许多信号蛋白本身是蛋白激酶，这些信号蛋白经常被组织成**磷酸级联反应（phosphorylation cascade）**，由磷酸化激活的蛋白激酶依次磷酸化下一个蛋白激酶，将信号传递下去；在此过程中，扩增了信号并且有时将信号传递到其他的信号途径。作为胞内信号蛋白的蛋白激酶有两大类：丝氨酸/苏氨酸激酶占大多数，它磷酸化蛋白质上的丝氨酸/苏氨酸（少数）；另一类是酪氨酸激酶，磷酸化蛋白质上的酪氨酸。某些激酶既是丝氨酸/苏氨酸激酶，也是酪氨酸激酶。基因组测序显示大约 2%的人类基因编码蛋白激酶，并且据认为一个典型的哺乳细胞内存在数百种不同的蛋白激酶。

另一类蛋白信号传递的分子开关是 **GTP 结合蛋白（GTP binding protein）**（讨论见第 3 章）。当 GTP 结合时，GTP 结合蛋白处于活性状态；GDP 结合时，GTP 结合蛋白处于无活性状态。一旦活化后，GTP 结合蛋白具有内在的 GTP 酶活性，通过将结合的 GTP 水解为 GDP 关闭其活性［图 15-17（B）］。GTP 结合蛋白分为两大类：一类是大的三体 GTP 结合蛋

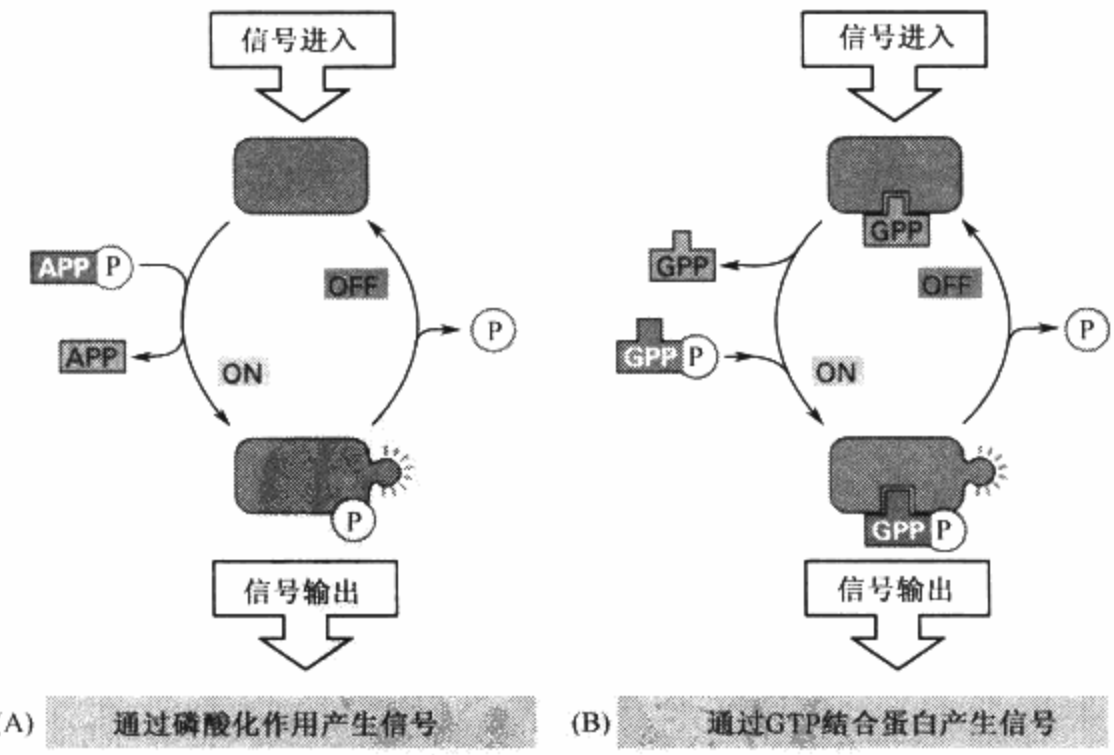


图 15-17　两种充当分子开关的胞内信号蛋白

在两种情况下，信号蛋白通过磷酸基团的添加被激活，通过磷酸基团的去除被失活。（A）磷酸基团被一个蛋白激酶共价加到信号蛋白上。（B）一个信号蛋白被诱导将其结合的 GDP 交换为 GTP。为了强调这两种机制的相似性，ATP 标志为 APPP、ADP 标志为 APP、GTP 标志为 GPPP，以及 GDP 标志为 GPP

白（也称为 G 蛋白），传递来自 G 蛋白偶联受体的信号［图 15-15（B）］；另一类是单体 GTP 酶（也称单体 GTP 结合蛋白），单体 GTP 酶也有助于传递胞内信号，但此外它们也还参与调控真核细胞的膜泡运输和许多其他过程。

前面已介绍过，复杂的细胞行为（如细胞存活和细胞增殖）通常是由胞外信号的特异组合激活，而不是单独由单个信号激活（图 15-8）。因此细胞必须整合来自不同信号的信息从而做出合适的反应，如生存或死亡、分裂或不分裂等。这种整合通常依赖于整合蛋白（图 15-16）。整合蛋白等同于电脑中的微处理器：整合蛋白需要多个信号输入以产生一个输出，导致想要的生物学效应。图 15-16 列出了两个例子，说明了这种整合蛋白的作用方式（图 15-18）。

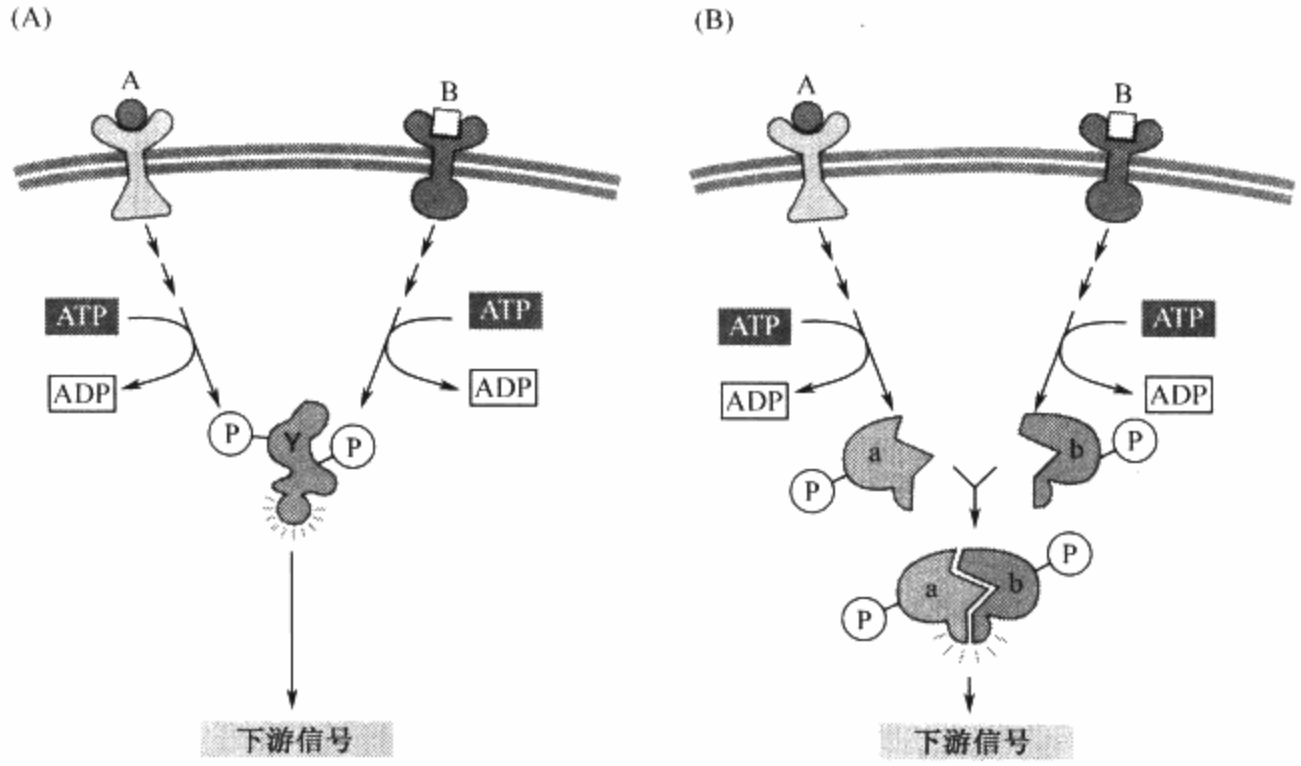


图 15-18　信号整合

（A）胞外信号 A 和 B 都激活一系列不同的蛋白质磷酸化，每种蛋白质磷酸化导致蛋白质 Y 的磷酸化，但在该蛋白质的不同位点上。蛋白质 Y 只当这些位点都被磷酸化时才被激活，因此它只有当信号 A 和 B 同时存在时有活性。因为这个原因，整合蛋白有时也称一致检测蛋白。（B）胞外信号 A 和 B 导致两个蛋白质 a 和 b 的磷酸化，然后磷酸化的 a 和 b 彼此结合形成活性蛋白质。在上述图解的两个例子中，蛋白质自身被磷酸化。然而，相当的对照形式也可通过将 GTP 结合蛋白上的 GTP 交换为 GDP 发生（图 15-17）

胞内信号传递复合体增强了反应的速度、效率和特异性

即使通过单种 G 蛋白偶联或酶联受体作用的单个胞外信号通常激活多个平行的信号途径，因而能影响细胞的多个方面，如细胞形状、运动、代谢和基因表达。事实上，这两大类细胞表面受体经常激活同一信号途径的某些信号蛋白，某个特异的胞外信号利用一类受体而不是另一类受体，其原因不清楚。

这些信号应答系统具有多个相互作用的信号蛋白传递链，信号应答系统的复杂性令人畏缩。目前并不清楚单个细胞如何对如此多的不同胞外信号做出特异的反应。许多胞外信号结合同一类的受体，并激活同一类信号传递途径中的许多信号蛋白。细胞为了实现特异性所采用的一种策略是采用**支架蛋白（scaffold protein）**（图 15-16），支架蛋白将一组相互作用的信号蛋白组织成信号传递复合体［图 15-19（A）］。因为支架蛋白指导该信号传递复合体中相邻

组分之间的相互作用，所以信号得以准确、迅速和有效地传递。此外，可以避免不必要的信号途径之间的交流。然而，为了扩增信号和将信号传递到细胞的其他部分，在大多数信号传递途径中甚少某些组分能自由扩散。

在其他情况下，胞外信号分子激活受体后，多个信号蛋白围绕受体装配，瞬时形式信号传递复合体。在某些这种情况下，激活的受体的胞质尾巴在活化过程中被磷酸化，随后磷酸化的氨基酸充当其他信号蛋白装配的停泊位点［图 15-19（B)］。在另外其他情况下，受体的活化导致在邻近的质膜上产生修饰过的磷脂分子，然后这些磷脂分子招募特异的胞内信号蛋白到该区域的膜上。所有的这些信号传递复合体只瞬时形成，当胞外配体从受体上解离后，信号传递复合体迅速去装配。

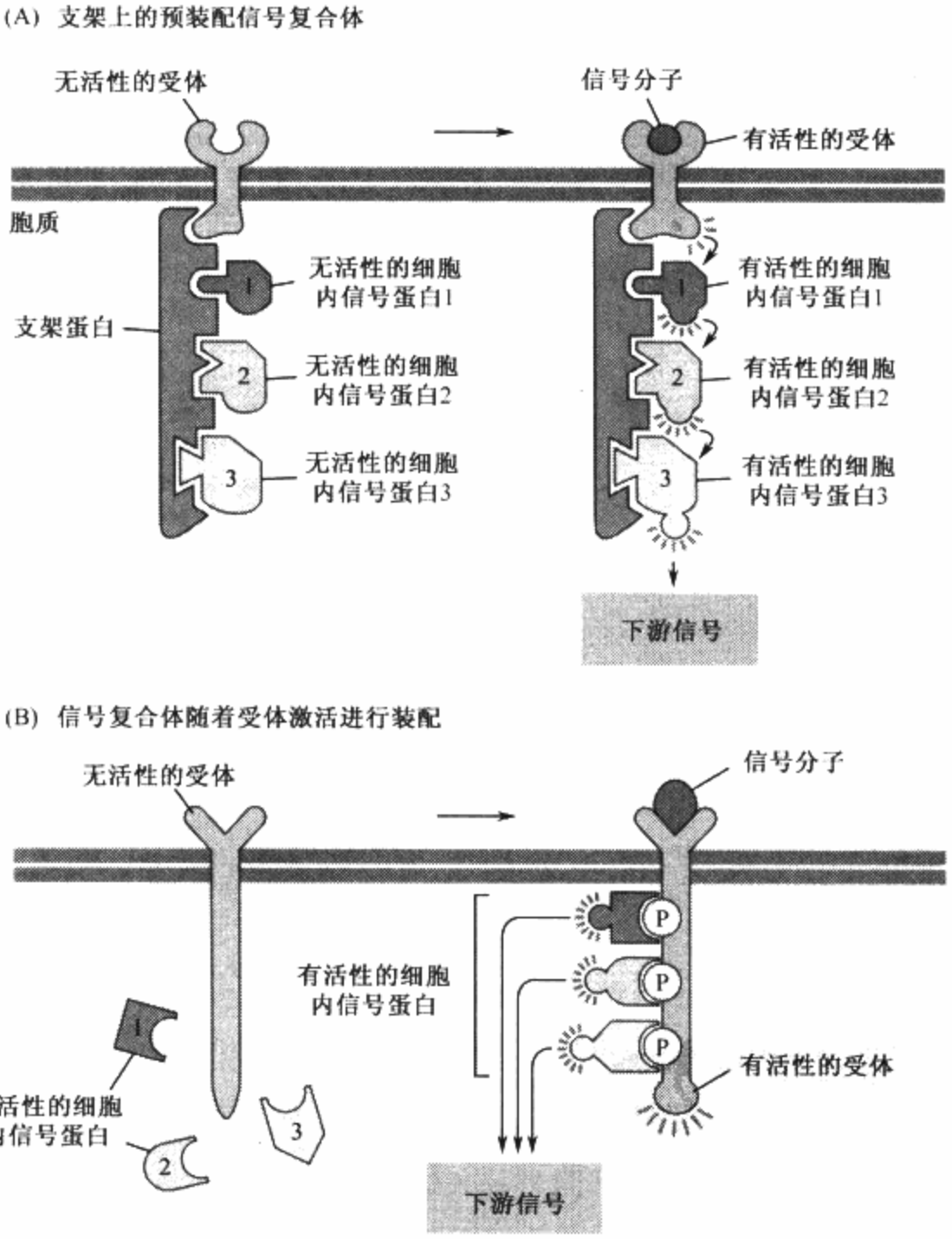


图 15-19　两种类型的胞内信号传递复合体

（A）一个受体和它所依次激活的某些胞内信号蛋白通过一个大的支架蛋白预装配成信号复合体。（B）当一个受体通过结合一个胞外信号被激活后，一个复合体被装配；这里激活的受体在多个位点磷酸化自身，然后充当胞内信号蛋白的停泊位点

模件结合结构域介导胞内信号蛋白之间的相互作用

稳定和瞬时的信号复合体的装配依赖于许多非常保守的小**结合结构域（binding domain）**。这些结合结构域存在于许多胞内信号蛋白中。每个紧密的蛋白质模件与信号蛋白相互作用的蛋白质（或脂）中的某个特定的结构基序结合。由于这些模件式的结构域，信号蛋白像.Lego积木一样以多种组合彼此结合，经常形成一个三维的互相作用网络，决定信号传递途径所采取的途径。通过以新的组合将已存在的结构域连接起来，这种模件式的结合结构域的使用可能促进了新信号传递途径的迅速进化。

例如，Src 同源蛋白 2（SH2）结构域和磷酸酪氨酸结合（PTB）结构域结合活化的受体或胞内信号蛋白的特定肽序列上的磷酸酪氨酸。Src 同源蛋白 3（SH3）结构域结合一小段富含脯氨酸的氨基酸序列。Pleckstrin 同源蛋白（PH）结构域（首先在血小板中的 Pleckstrin 蛋白上发现）结合特以磷酸化的肌醇磷脂上的带电荷的头部基团，这些磷酸化的肌醇磷脂是在应答胞外信号时产生于细胞膜上。因而 PH 结构域使含 PH 结构域的蛋白质停泊在膜上，并与其他已招募的信号蛋白相互作用。某些信号蛋白只起衔接蛋白作用，将一个信号传递途径中的两个其他蛋白质连接在一起，这些衔接蛋白只由两个或多个结合结构域组成(图 15-20)。

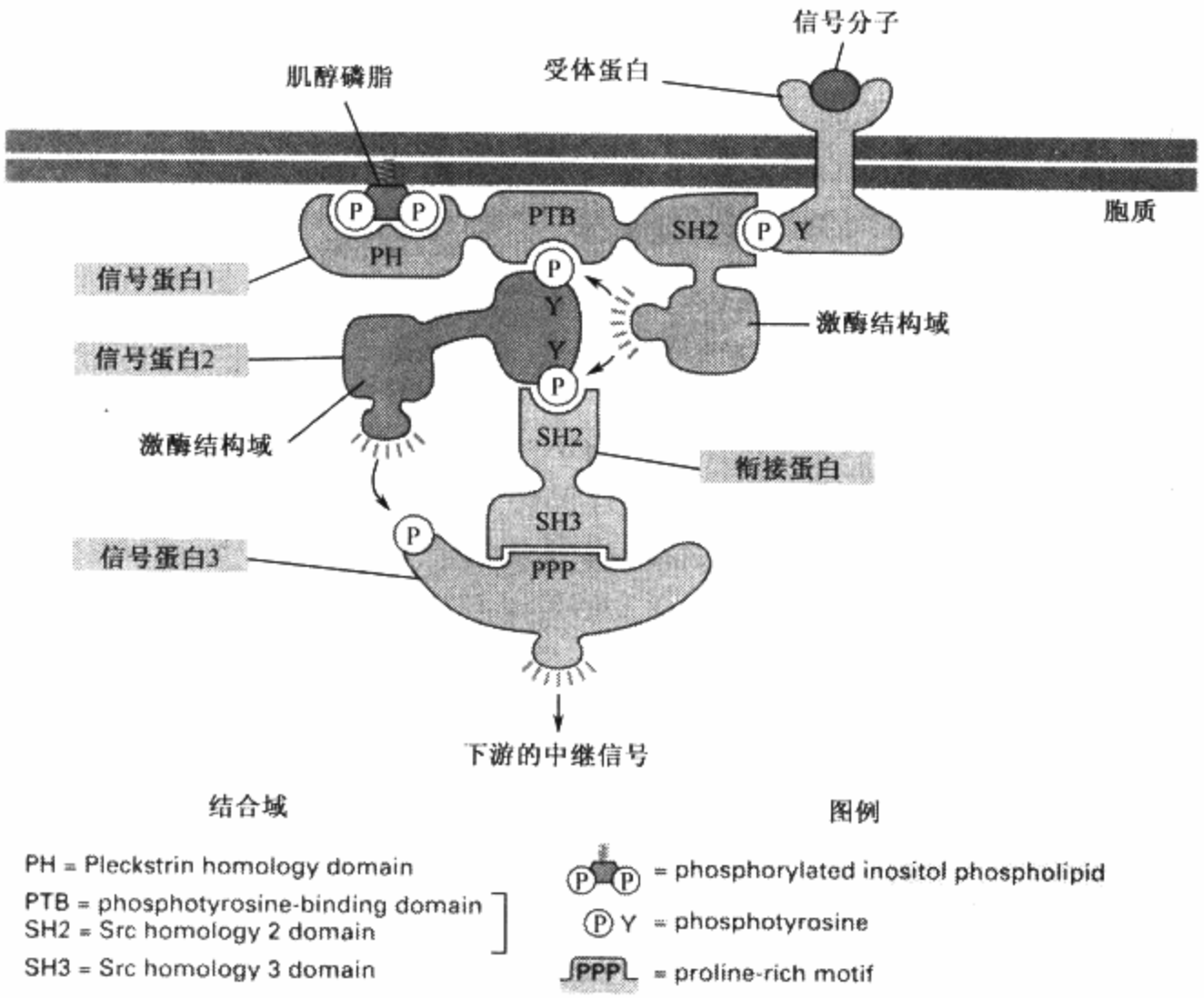


图 15-20　利用模件结合结构域的假设的信号传递调节

信号蛋白 1 含有 3 个不同的结合结构域，以及 1 个催化蛋白激酶结构域。当胞外信号导致在膜的胞质面形成不同的磷酸化停泊位点时，蛋白 1 移动到质膜。蛋白 1 的 SH2 结构域与脂双层的内小叶中磷酸化的肌醇磷脂结合。然后，蛋白 1 磷酸化信号蛋白 2 上的酪氨酸，这使得蛋白 2 能结合蛋白 1 上的 PTB 结构域和一个衔接蛋白上的 SH2 结构域。衔接蛋白接着连接蛋白 2 和蛋白 3，导致蛋白 2 对蛋白 3 的磷酸化。所示的衔接蛋白是由两个结合结构域组成，即一个 SH2 结构域和一个 SH3 结构域，SH2 结构域结合蛋白 2 上的磷酸酪氨酸，SH3 结构域则结合蛋白 3 上的富含脯氨酸的基序

支架蛋白经常含有多个 PDZ 结构（最初发现于称为突触后密度的突触区域），每个 PDZ 结构域结合受体或信号蛋白上的特异基序。果蝇受体细胞中的支架蛋白 InaD 便是一个很好的例子。InaD 支架蛋白含有 5 个 PDZ 结合结构域，其中一个结合光激活的离子通道，而其他 PDZ 结构域每个结合参与细胞对光的应答的不同信号蛋白。如果这些 PDZ 结构域中的任一个缺失，那么相应的信号蛋白就不能装配到复合体中，果蝇的视觉就有缺陷。

某些细胞表面受体和胞内信号蛋白被认为在质膜脂双层的特异微结构域中瞬时束集在一起，这些微结构域富含胆固醇和糖脂。某些蛋白质通过共价连接的脂分子定位于这些**脂筏**。与支架蛋白一样，这些脂支架可能充当信号分子装配和相互作用的位点，从而促进信号传递过程中的速度和效率（图 10-13）。

细胞能对逐渐增加浓度的胞外信号做出反应

对胞外信号分子的某些细胞反应与信号分子的浓度呈简单的比例关系。对甾类激素的初次反应经常遵循这种模式（图 15-14），可能是因为核内激素受体蛋白结合单分子激素，甾类激素应答基因中的每一个特异 DNA 识别序列单独起作用。随着激素浓度的增加，激活的受体-激素复合体的浓度成比例地增加，同时与特异识别序列结合的复合体数量也增加；因此，细胞反应是渐增的和呈线性的。

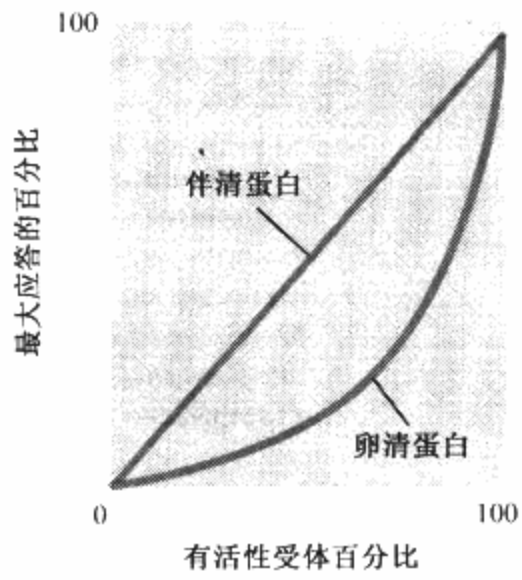


图 15-21　鸡输卵管细胞对甾类性激素雌二醇的初次应答

当被激活时，雌二醇受体打开几个基因的转录。图中所示的是这些基因的两个剂量效应曲线，一个编码卵蛋白伴清蛋白，另一个编码卵蛋白卵清蛋白。伴清蛋白的线性反应曲线表明每个结合伴清蛋白基因的激活的受体分子以同样的量增强基因的活性。相比之下，卵清蛋白的反应曲线在平缓之后陡然升高表明一个以上活化的受体（在这种情况下，两个受体）必须同时结合卵清蛋白基因以起始该基因的转录（改编自 E. R. Mulvihill and R. D. Palmiter, *J. Biol. Chem.* 252: 2060～2068, 1977）

然而，随信号分子浓度的增加，对胞外信号分子的许多反应突然开始。某些反应可能甚至以几乎全或无的方式发生，即在分子的阈值浓度下检测不到反应，一旦浓度超过阈值浓度就升到最大值。这种对逐渐增加浓度的信号的陡的甚至开关式的反应的分子基础是什么呢？

增强这种反应的一种机制是一个以上的胞内效应分子或复合体结合某个靶分子以诱导细胞反应。例如，某些甾类激素诱导的反应中，似乎一个以上的激活受体-激素复合体必须同时结合 DNA 的特异调控序列，从而激活某个特异的基因。因此，随着激素浓度的升高，与单一结合的复合体（如果单一结合的复合物足以激活的话）相比，基因激活更突然地起始（图 15-21）。相似的协同性机制经常存在于细胞表面受体激活的信号传递级联反应中。例如，我们后面将介绍，4 分子的胞内小调质 cAMP 必须结合 1 分子 cAMP 依赖的蛋白激酶以激活该激酶。随着协同作用的分子数量增加，这些反应变得更加强烈，如果数量足够大的话，便实现接近全或无的反应（图 15-22 和图 15-23）。

当胞内信号分子激活某种酶，同时抑制催化相反方向的另一种酶时，反应也被增强。这种常见的调控类型中的一个详细研究的例子是激素肾上腺素（epinephrine，肾上腺素的商品名）诱导的骨骼肌中糖原降解的促进。与 G 蛋白偶联的细胞表面受体的结合导致胞内 cAMP 浓度的增加，cAMP 同时激活促进糖原降解的酶和抑制促进糖原合成的酶。

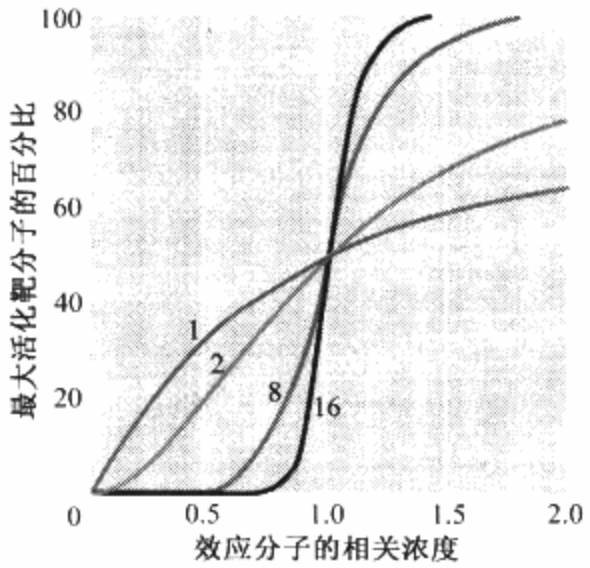


图 15-22　作为当分子浓度函数的激活曲线

该曲线表明反应的敏锐度如何随着效应分子数量的增加而增加，效应分子必须同时结合以激活靶大分子。图中所示的曲线是如果激活需要同时结合 1、2、8 或 16 个效应分子时所得到的预期结果

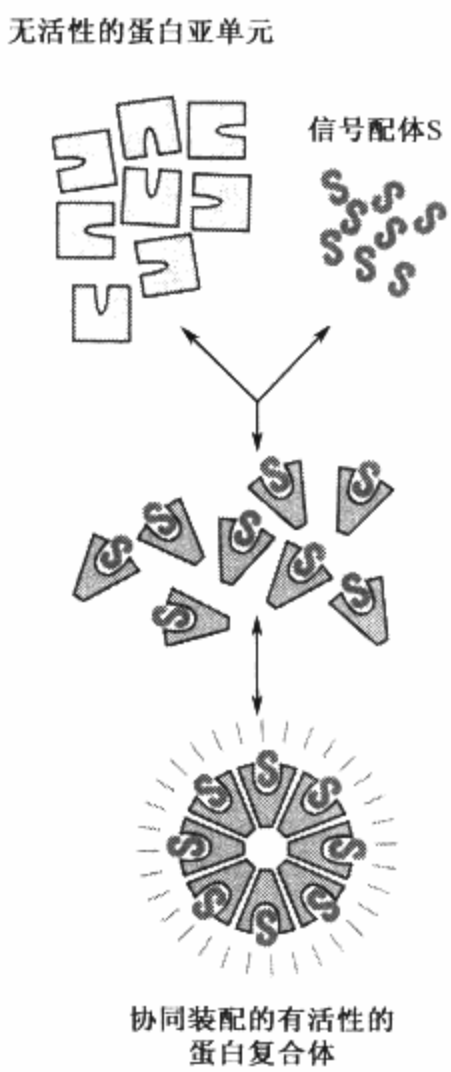


图 15-23　预期表现陡的阈值类似的反应的一种信号传递机制

8 个分子的信号配体同时与一套 8 个蛋白质亚基结合对于形成活性蛋白复合体是必需的。亚基装配成活性复合体的能力依赖于当蛋白质亚基结合其配体时这些亚基进行的异构效应的构象变化。以形成这种复合体的配体结合通常是一种协作的过程，随着配体浓度的改变导致陡的反应，这在第 3 章中有介绍。在低的配体浓度时，活性复合体的数量大致与配体浓度的 8 次幂呈正比

所有的这些机制都能根据胞外信号分子的浓度产生非常陡但总是平滑上升的反应。然而另一种机制能产生真正的全或无的反应，信号增加到超过某一关键的阈值水平时在应答细胞中产生突然的转换。这种全或无的阈值反应通常依赖于正反馈；通过这种机制，神经和肌肉细胞产生对神经递质的全或无的动作电位（讨论见第 11 章）。例如，神经肌肉接头处离子通道偶联的乙酰胆碱受体的活化到导致 Na^+ 内流，Na^+ 内流局部去极化肌细胞质膜。这导致相同膜区域的电压门控 Na^+ 通道的开放，产生更多的 Na^+ 内流，进一步去极化质膜，从而开放更多的 Na^+ 通道。如果初始的去极化超过某一阈值，这种正反馈具有暴发的“失控”效应，产生沿整个质膜传播的动作电位。

加强的正反馈机制也能通过信号蛋白起作用，这些信号蛋白是酶而不是离子通道。例如，假设某一特定的胞内信号配体激活信号传递途径下游的酶，而且该酶促反应的两个或多个产物与该酶结合从而进一步激活该酶（图 15-24）。结果是没有配体时只有非常低的产物合成。随着配体浓度的升高，合成速率，缓慢地升高，当配体浓度达到阈值时，足够的产物被合成后以自我加速的失控方式激活该酶。产物的浓度突然增加到非常高的水平。通过这些机制以

及许多这里未介绍的其他机制，细胞经常将信号配体逐渐升高的浓度转换成开关式的变化，产生全或无的细胞反应。

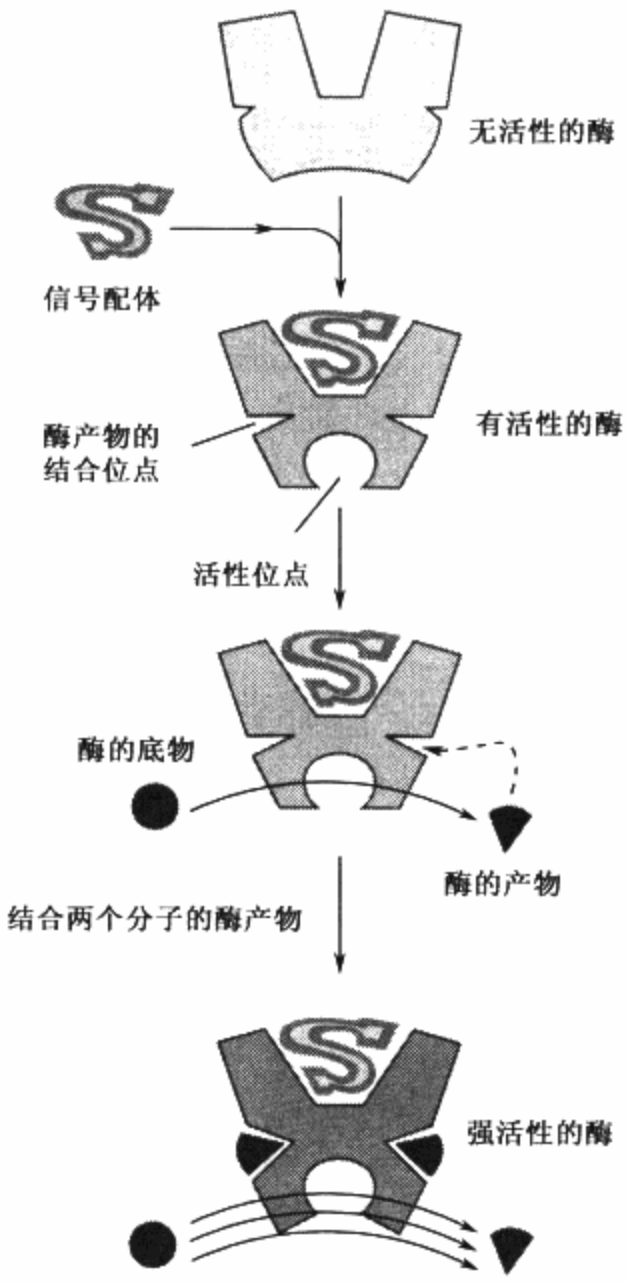


图 15-24　一种加强的正反馈机制

在这个例子中，信号配体的起始结合激活酶产生可以回去结合该酶的产物，进一步增强酶的活性

细胞能记忆某些信号的效应

在某些情况下，胞外信号对把细胞的效应在信号消失后仍持续存在，刚介绍的酶促正反馈系统是这种持续的机制之一。如果正反馈系统是通过提高胞内即激活的配体浓度已超过阈值开启的话，那么即使当胞外信号消失时，正反馈系统仍保持开启状态；应答系统并不是真实地反映信号当前的水平，而是表现出记忆效应。Ca^{2+} 激活的蛋白激酶是记忆效应的一个特定例子，该激活磷酸化自身以及其他蛋白。在 Ca^{2+} 水平恢复正常时，自磷酸化保持该激的活性，提供了初始信号的记忆效应。

在多细胞生物的发育过程中，瞬时的胞外信号经常诱导细胞内的非常长期的变化。某些变化能持续生物体的一生。这些变化通常依赖于自我活化的记忆机制，这些记忆机制在信号通过传递途径的下游发挥作用，即基因转录水平上。例如，诱发肌肉细胞决定的信号开启一系列肌肉特异的基因调控蛋白。这些基因调控蛋白促进其自身基因的转录以及产生许多其他肌肉蛋白的基因的转录。通过这种方式，分化为肌肉细胞的决定就被永久化了［图 7-72（B)］。

细胞能调节其对信号的灵敏性

在对许多刺激的应答过程中，细胞和生物体能够在非常宽的刺激强度范围内检测到信号的相同比例的变化。靶细胞必须进行**适应（adaptation）**或**脱敏（desensitization）**的可逆过程，而过长时间与刺激接触降低细胞对刺激的反应。在化学信号传递过程中，适应使细胞能够在非常宽的配体浓度范围内对信号配体的浓度变化（而不是配体的绝对浓度）做出应答。基本原理是一种负反馈，该负反馈是通过延迟起作用的。强的反应修饰机器以作出应答，从而机器重新设置成关闭状态。然而，由于这种延迟作用，在负反馈有时间发挥作用前，其自身能在短时间内强烈感受到刺激的突然变化。

对某一信号分子的脱敏能以不同方式发生。例如，配体与细胞表面受体结合可以诱导细胞表面受体的胞吞和内吞体内的临时隔离，这种配体诱导的受体内吞能导致受体在溶酶体内的降解，这一过程转为受体的下调。在其他情况下，脱敏是由于受体的快速失活。例如，受体活化后受体的磷酸化导致受体的失活。参与信号转导的蛋白质变化或抑制信号转导过程的抑制物的产生也能导致脱敏（图 15-25)。

介绍完细胞信号传递的某些基本原理后，我们现在介绍 G 蛋白偶联受体。这些受体是最大类的细胞表面受体，它们介导对大多数胞外信号的应答。该受体蛋白超家族不仅介导胞内

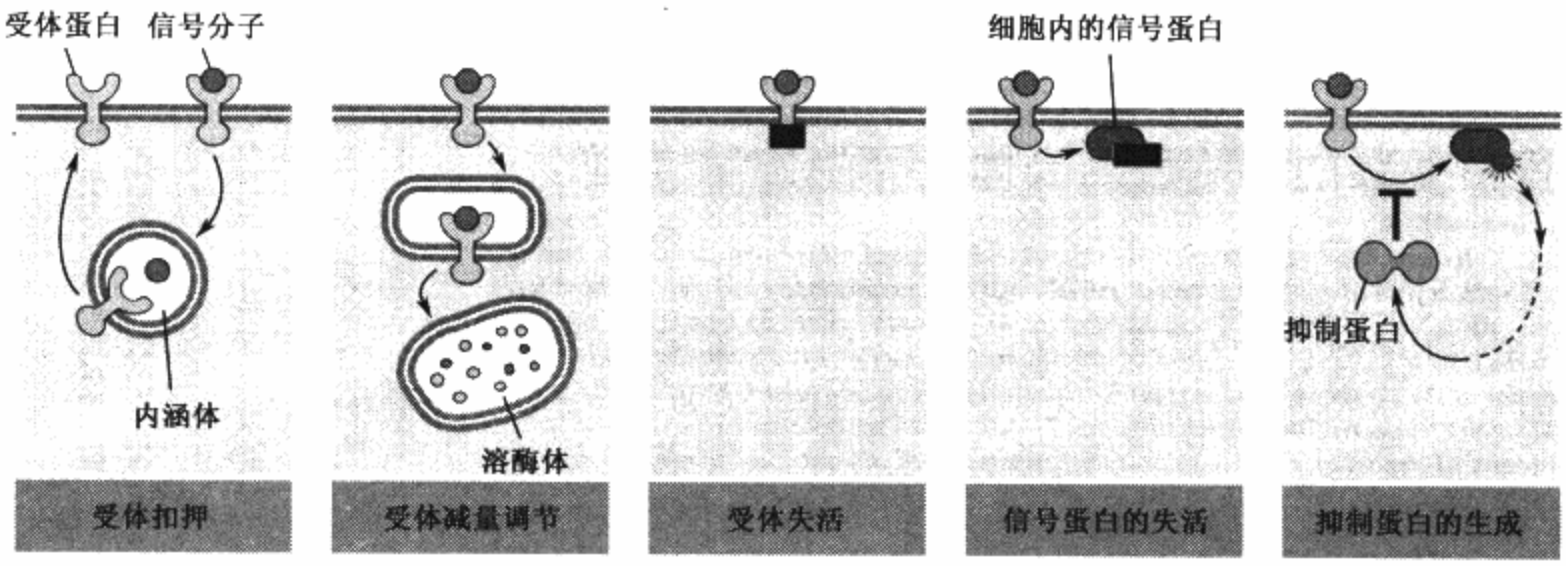


图 15-25　靶细胞对信号分子脱敏的 5 种方式

图中所示的对受体和胞内信号蛋白的失活机制经常需要被失活的蛋白质的磷酸化，但已知也发生其他类型的修饰。在以后介绍的细菌趋化性中，脱敏依赖于受体蛋白的甲基化

通讯，它对视觉、嗅觉和味觉的感知也是至关重要。

小结

多细胞动物中的每个细胞在发育过程中被编程以对其他细胞产生的一套特异胞外信号做出应答。这些信号以各种组合作用以调控细胞的行为。大多数信号介导一种形式的信号传递，在这种信号传递中局部调质被分泌，但随后很快地被吸收、破坏或固定化，以至于它们只作用于相邻细胞。其他信号保持与信号细胞的外表面结合并介导接触依赖的信号传递。集中控制的实施是通过内分泌信号传递（内分泌细胞分泌的激素在血液中被携带到遍布整个身体的靶细胞），和突触传递（神经细胞轴突分泌的神经递质局部作用于轴突所接触的突触后细胞）。

细胞信号传递不仅需要胞外信号分子，但也需要每个细胞中一套互补的受体蛋白，受体使细胞以特异的方式结合并应答信号分子。某些小的疏水信号分子（包括甾类和甲状腺素）扩散穿过靶细胞的质膜，并激活直接调控特异基因转录的胞内受体蛋白。溶解的气体一氧化氮和一氧化碳通过扩散穿过靶细胞质膜并激活一种胞内酶而充当局部调质，该胞质酶通常是鸟苷酸环化酶，鸟苷酸环化酶在靶细胞中产生 cGMP。但大多数胞外信号分子是亲水的，能激活靶细胞表面的受体蛋白；这些受体充当信号转导蛋白，将胞外结合事件转换为改变靶细胞行为的胞内信号。

有三大类细胞表面受体，每种受体以不同的方式转导胞外信号。离子通道偶联受体是递质门控离子通道，在应答神经递质的结合时打开或关闭。G 蛋白偶联受体通过三体 GTP 结合蛋白（G 蛋白）间接激活或失活与质膜结合的酶或离子通道。酶联受体直接充当酶或与酶结合；这些酶通常是蛋白激酶，磷酸化靶细胞内的特异蛋白。

一旦活化后，酶联受体和 G 蛋白偶联受体通过激活胞内信号蛋白链，将信号传递到细胞内部。随着它们传递信号，某些信号蛋白转导、扩增或扩散信号，而其他信号蛋白整合来自不同的信号传递途径的信号。许多这些蛋白质充当开关，被磷酸化或 GTP 结合瞬时激活。功能信号传递复合体的形成经常是通过信号蛋白中的模件结合结构域，这些结构域使复杂的蛋白质复合体在信号传递网络中行使功能。

靶细胞是由许多种胞内机制以对胞外信号的浓度做出突然的应答或以将短暂的信使转变

为长期的应答。此外，通过适应，靶细胞经常可逆地调节它们对信号的灵敏性，从而使细胞能在很宽的浓度范围内，对特异信号分子的浓度变化做出应答。

G 蛋白偶联的细胞表面受体介导的信号传递

G 蛋白偶联受体（G-protein-linked receptor）是最大的一类细胞表面受体，存在于所有的真核生物中。例如，线虫（*C. elegans*）中约 5%基因编码该受体，哺乳动物中已确定了数千种编码该受体的基因，小鼠有大约 1000 个受体与嗅觉相关。G 蛋白偶联受体介导针对许多不同的信号分子的应答，这些信号分子包括激素、神经递质和局部调质。激活 G 蛋白偶联受体的这些信号分子在结构和功能上是不同的：信号分子包括蛋白质和小肽，以及氨基酸和脂肪酸的衍生物。相同的配体能激活许多不同的受体家族成员。例如，肾上腺素激活至少 9 个不同的 G 蛋白偶联受体。乙酰胆碱激活 5 个或更多的 G 蛋白偶联受体，神经递质 5-羟色胺激活至少 15 个 G 蛋白偶联受体。

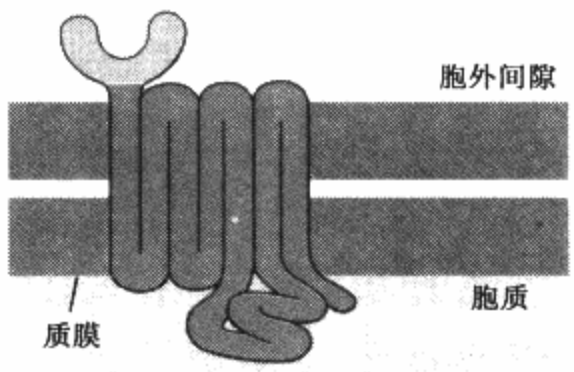


图 15-26　一个 G 蛋白偶联受体

结合蛋白配体的受体具有一个大的胞外结构域，胞外结构域是由亮绿色所示的部分多肽链形成的。该结构域和某些跨膜片段一起结合蛋白配基。小配体（如肾上腺素）的受体具有小的胞外结构域，配体通常深入地结合膜平面内由几个跨膜片段的氨基酸形成的位点

尽管与受体结合的信号分子在化学结构和功能上具有差异，所有 G 蛋白偶联受体具有相似的结构。G 蛋白偶联受体是由一条多肽链构成，来回穿过脂双层 7 次。因此有时称为蛇状受体（图 15-26）。除了其在质膜上的典型定位外，G 蛋白偶联受体都利用 G 蛋白将胞外配体存在的信号传递到细胞内部。

该 7 次跨膜蛋白的超家族包括视紫红质（脊椎动物眼中的光激活蛋白），以及脊椎动物鼻中的许多嗅觉受体，这些以后介绍。其他家族成员也存在于单细胞生物中，如酵母中识别分泌的交配因子的受体便是一个例子。事实上，据认为介导多细胞生物的细胞-细胞信号传递的 G 蛋白偶联受体是由单细胞真核生物祖先的感觉受体进化而来的。

值得注意的是，大约一半的所有已知药物是通过 G 蛋白偶联受体起作用的。基因组测序项目显示大量新的家族成员，其中许多是有待于发现的新药物作用的可能靶蛋白。

三亚基的 G 蛋白解离后传递来自 G 蛋白偶联受体的信号

当胞外信号分子结合蛇状受体时，受体进行构象变化，使受体激活**三体 GTP 结合蛋白（trimeric GTP-binding protein，G 蛋白）**。这些 G 蛋白附着在质膜上的胞质面上，在此充当传递分子，功能上将受体与质膜上的酶或离子通道偶联。有不同种的 G 蛋白，每种 G 蛋白对一套质膜上特异的蛇状受体和一套特异的下游靶蛋白是特异的。然而，所有的 G 蛋白具有相似的结构，而且它们的作用方式也相似。

G 蛋白由三个蛋白质亚基 α、β、γ 组成的。在未活化的状态下，α 亚基与 GDP 结合，G 蛋白处于未活化的状态（图 15-27）。当激活的受体激活 G 蛋白时，α 亚基释放与其结合的 GDP，使得 GTP 与 G 蛋白结合。这种交换导致三聚体解离成两个激活的组分，一个 α 亚基和一个 βγ 复合体（图 15-28）。

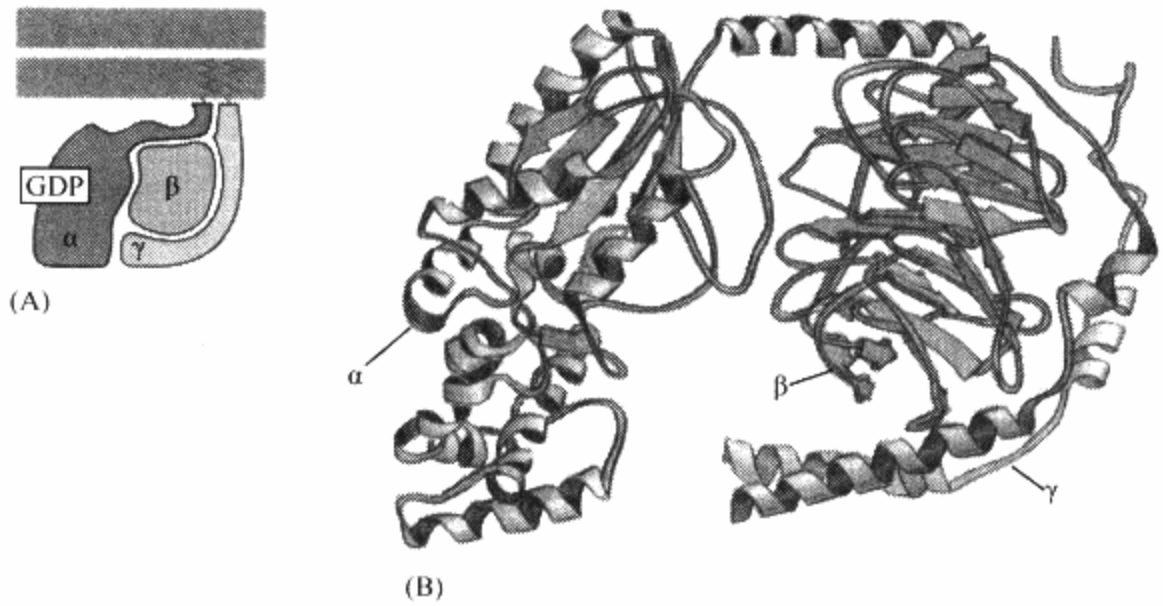


图 15-27　无活性的 G 蛋白的结构

（A）注意 α 和 γ 亚基都具有共价连接的脂分子（红色），这些脂分子有助于将它们与质膜结合，α 亚基具有 GDP 结合。（B）一个无活性的 G 蛋白的三维结构，该结构以转导素为依据，转导素是视觉转导中的 G 蛋白（后面介绍）。α 亚基含有 GTP 酶结构域，结合 β 亚基的一侧，β 亚基将 GTP 酶结构域锁定在与 GDP 结合的无活性结构域上。γ 亚基结合 β 亚基的另一侧［（B），以 D. G. Lombright et al.，*Nature* 379：311～319，1996. 为依据］

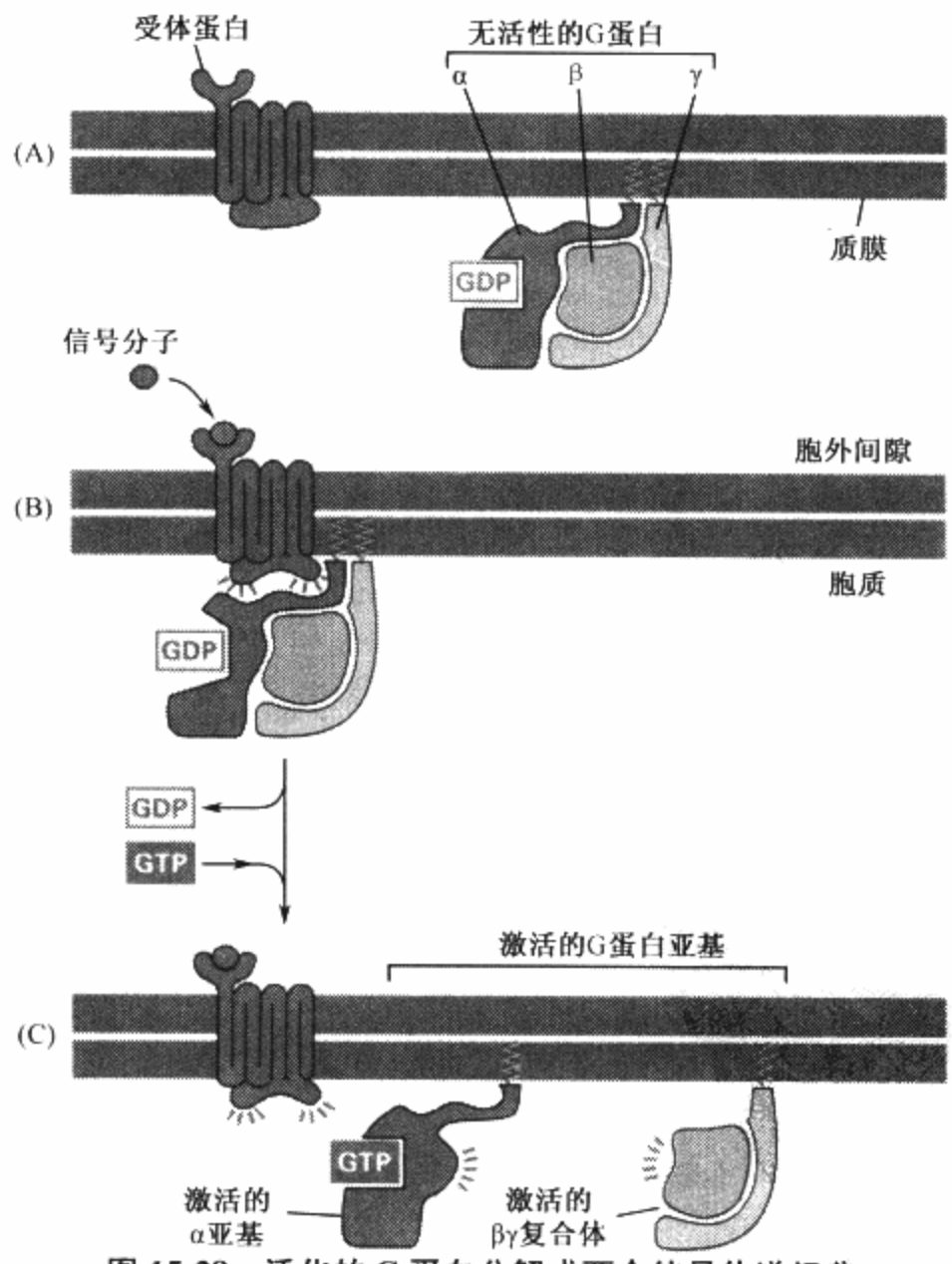


图 15-28　活化的 G 蛋白分解成两个信号传递组分

（A）在未激活的状态，受体和 G 蛋白都无活性。尽管它们在此标注为质膜上的单独实体，但至少在某些情况下它们在一个预先形成的复合体是关联的。（B）胞外信号与受体的结合改变受体的构象，受体构象的改变又会改变与受体结合的 G 蛋白的构象。（C）G 蛋白 α 亚基的改变使其能将它的 GDP 交换为 GTP。这导致 G 蛋白解散成两个有活性的组分——一个 α 亚基和一个 βγ 复合体，两者都能调控质膜上靶蛋白的活性。当胞外信号分子与它结合时受体保持活性，因此受体能催化许多分子 G 蛋白的激活

三体 G 蛋白的解离以不同的方式激活其他的两个组分。GTP 结合导致构象发生改变，影响 α 亚基与 βγ 复合体结合的表面。这种改变导致 βγ 复合体的释放，但也导致 α 亚基采取一种新形状，使得它与其靶蛋白相互作用。βγ 复合体并不改变构象，但以前被 α 亚基屏蔽的表面现在能与第二套靶蛋白相互作用。G 蛋白解离组分的靶标是质膜上的酶或离子通道，它们将信号传递下去。

α 亚基是一种 GTP 酶，一旦 α 亚基将与其结合的 GTP 水解成 GDP，α 亚基再与 βγ 复合

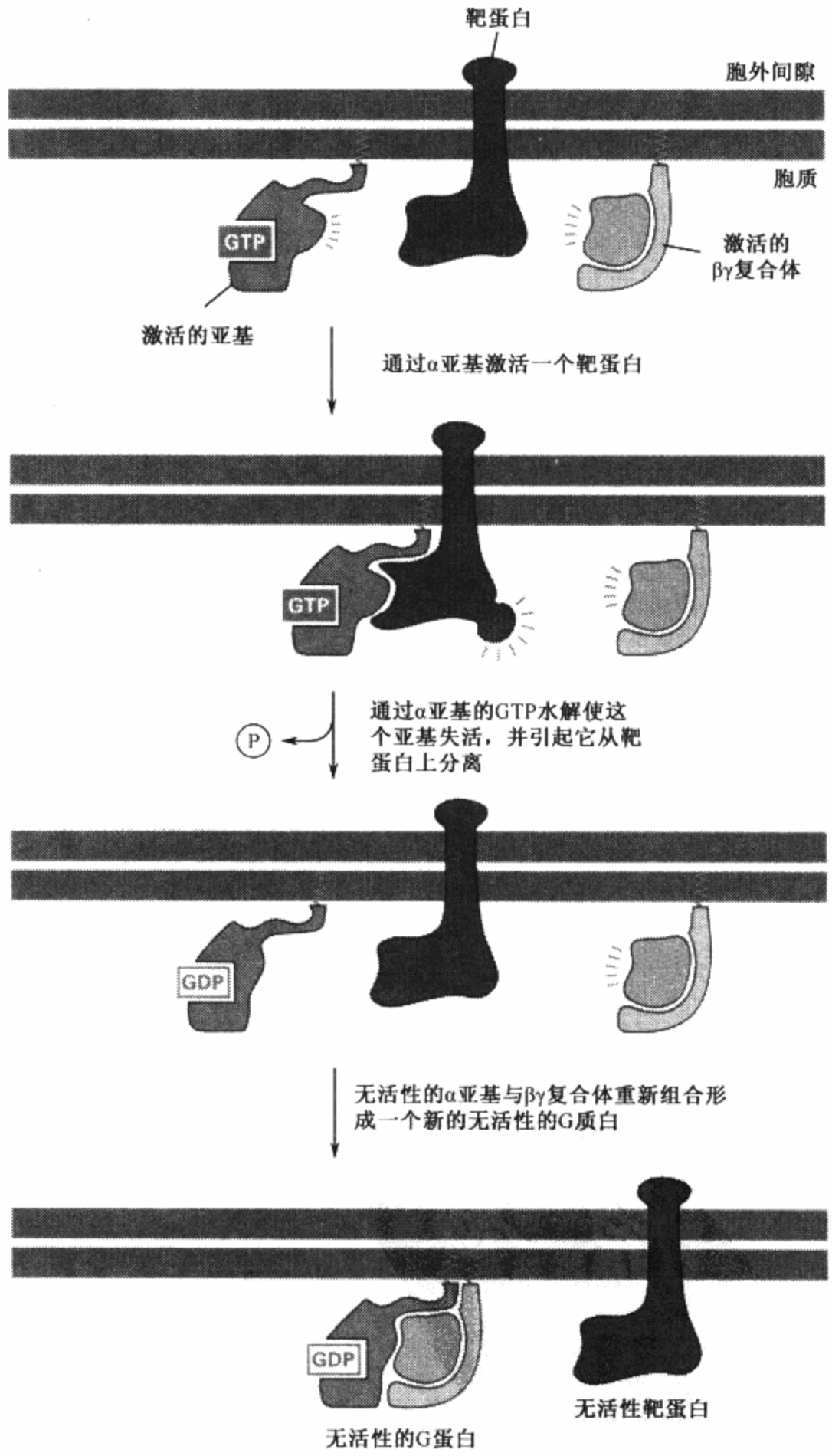


图 15-29　通过水解其结合的 GTP 关闭 G 蛋白亚基 α

在 G 蛋白 α 亚基激活其靶蛋白后，α 亚基通过将其结合的 GTP 水解为 GDP 关闭自身。这失活了 α 亚基，α 亚基与靶蛋白解离，并再与 βγ 复合体结合，以重新形成无活性的 G 蛋白。结合靶蛋白或膜结合的 RGS 蛋白（图中未标出）通常激活 α 亚基的 GTP 酶活性，这种激活大大地加速了图中所示的失活过程

体结合，重新形成无活性的 G 蛋白，关闭激活过程（图 15-29）。α 亚基与 βγ 复合体分开并保持活化状态的时间通常较短，持续时间取决于 α 亚基水解与其结合的 GTP 的速度。单独的 α 亚基 GTP 酶活性效率低，几分钟后才失活。然而，G 蛋白活化的逆转通常比这快得多，这是因为第二个蛋白质的结合大大增强了 α 亚基的 GTP 酶活性，该蛋白质或者是其靶蛋白，或者是称为 G 蛋白信号传递调控（RGS）蛋白的特定调节蛋白。**RGS 蛋白（RGS protein）** 充当 α 亚基特异的 GTP 酶激活蛋白（GAP），它们被认为在关闭所有真核生物中 G 蛋白介导的应答中起关键作用。人类基因组大约编码 25 个 RGS 蛋白。其中每种 RGS 蛋白被认为与一套特异的 G 蛋白相互作用。

GTP 酶活性在关闭细胞对信号的应答上的重要性能容易地在试管中得到证实。如果细胞破碎后加入 GTP 的类似物（GTPγS），由于 GTPγS 的末端磷酸不能被水解，激活的 α 亚基很长时间内保留活性。

某些 G 蛋白通过调控 cAMP 的生成进行信号传递

环 AMP（cyclic AMP，cAMP） 首次在 1950 年确认为小的胞内调质。此后发现在所有已研究过的原核和动物细胞中 cAMP 都起胞内调质的功能。细胞内 cAMP 的正常浓度是大约 10^{-7}mol/L，但胞外信号能导致 cAMP 水平在数秒内发生大于 20 倍的变化（图 15-30）。以前介绍过（图 15-10），如此快速的反应需要分子的快速合成与其快速降解或去除平衡。事实上，cAMP 是在质膜结合酶**腺苷酸环化酶（adenylyl cyclase）** 的催化下由 ATP 合成，一个或多个**cAMP 磷酸二酯酶（cyclic AMP phosphodiesterase）**，通过将 cAMP 水解成腺苷 5′磷酸（5′-AMP）快速并持续地降解 cAMP（图 15-31）。

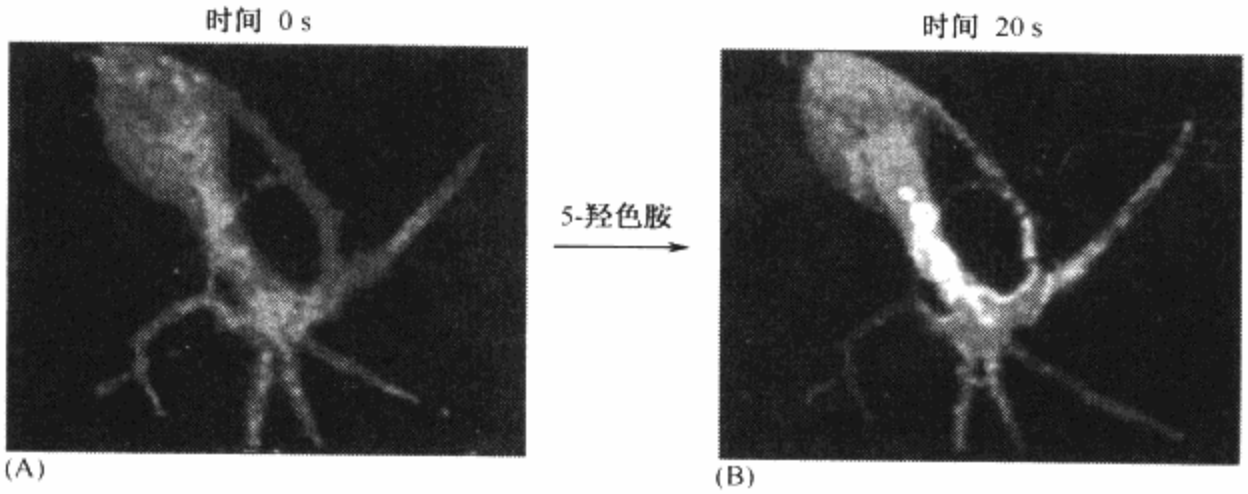


图 15-30　在应答胞外信号时 cAMP 的增加

培养的神经细胞正对水解递质 5-羟色胺作出应答，5-羟色胺通过 G 蛋白偶联受体起作用，导致 cAMP 胞内浓度的迅速升高。为了监测 cAMP 水平，将荧光蛋白导入细胞，当结合 cAMP 时荧光蛋白改变其荧光。蓝色表示低水平的 cAMP，黄色表示中间水平的 cAMP，红色表示高水平的 cAMP。（A）静息细胞中，cAMP 的水平大约是 5×10^{-8} mol/L 。（B）在向培养基中加 5-羟色胺后 20s，cAMP 胞内水平升高到大于 10^{-6} mol/L，增加 20 多倍（摘自 Brian J. Bacskai et al. , *Science* 260：222～226，1993. © AAAS.）

许多胞外信号分子通过增加 cAMP 含量起作用，这些信号分子是通过增强腺苷酸环化酶活性，而不是降低磷酸二酯酶的活性来增加 cAMP 含量的，腺苷酸环化酶是大的多次跨膜蛋白，其催化结构域在质膜的胞质面。哺乳动物至少有 8 个异形体，大多数异形体是由 G 蛋白和 Ca^{2+} 调控的。通过 cAMP 起作用的所有受体都与**刺激性 G 蛋白（stimulatory G protein，Gs）** 偶联，Gs 激活腺苷酸环化酶从而增加 cAMP 浓度。另一种称为**抑制性 G 蛋白（inhibitory G**

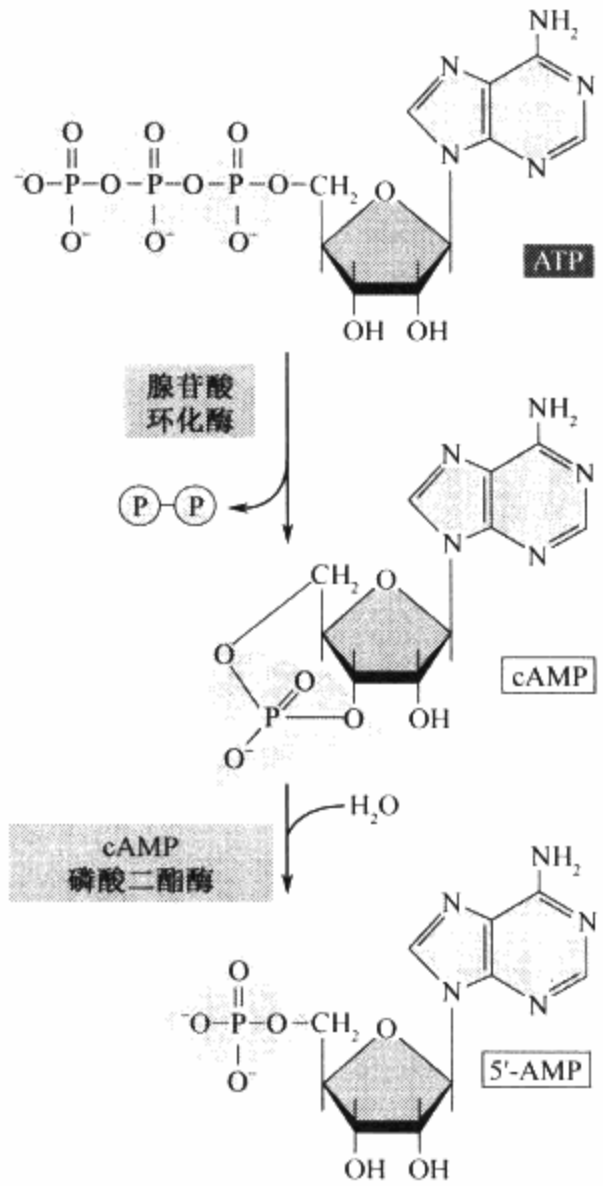


图 15-31　cAMP 的合成和降解

在由腺苷酸环化酶催化的反应中，cAMP 是通过环化反应由 ATP 合成的，该环化反应以焦磷酸（Ⓟ-Ⓟ）的形式去除两个磷酸基团。焦磷酸酶通过水解释放的焦磷酸为磷酸（图中未标出）驱动这一合成过程。cAMP 在细胞中不稳定，因为 cAMP 本身被一个特异的磷酸二酯酶水解形成 5′AMP，如图所示

protein，Gi）的 G 蛋白抑制腺苷酸环化酶，但 Gi 主要是通过直接调控离子通道（以后介绍），而不是降低 cAMP 含量起作用。尽管通常是 α 亚基调控 cAMP 环化酶，但 βγ 复合体有时也调控环化酶，加强或降低环化酶的活性，取决于特定的 βγ 复合体和环化酶异形体。

Gs 和 Gi 都是某些医学上重要的细菌毒素的作用靶蛋白。霍乱酶素是由导致霍乱的细菌产生的，是催化胞内 NAD^+ 的 ADP 核糖转移到 Gs 的 α 亚基。ADP 核糖化改变 α 亚基使其不再能水解与其结合的 GTP，导致 α 亚基保持活性状态，从而无限地刺激腺苷酸环化酶。肠上皮细胞内 cAMP 水平的长期升高导致 Cl^- 的大量流出和水大量流入肠，从而引起严重的腹泻。百日咳毒素是由导致百日咳（哮咳）的细菌产生的，催化 Gi 的 α 亚基 ADP 核糖基化，阻止 α 亚基与受体的相互作用；因此 α 亚基保留与其结合的 GTP，不能调控靶蛋白，这两种毒素被广泛用作工具药，以确定细胞对信号的应答是由 Gs 或 Gi 介导的。

表 15-1 列举了由 Gs 刺激 cAMP 浓度增加介导的某些反应。不同的细胞类型对 cAMP 浓度的增加反应不同，任一种细胞类型通常反应方式相同，即使不同的胞外信号诱导 cAMP 浓度的增加。例如，至少 4 种激素激活脂肪细胞内的腺苷酸环化酶，所有的这些激素促进三酰甘油（脂肪的储存形式）降解成脂肪酸。

遗传上缺少某个特定 Gsα 亚基的个体表现出对某些激素的反应降低。因此，他们代谢异常、骨骼发育异常以及头脑迟钝。

表 15-1　cAMP 介导的某些激素诱导的细胞反应

靶细胞	激素	主要反应
甲状腺	促甲状腺素（TSH）	甲状腺素的合成和分泌
肾上腺皮质	促肾上腺皮质素（ACTH）	皮质醇的分泌
卵巢	促黄体生成激素（LH）	孕酮的分泌
肌肉	肾上腺素	糖原的分解
骨	甲状旁腺激素	骨的再吸收
心脏	肾上腺素	心率和收缩力的增加
肝脏	胰高血糖素	糖原的分解
肾脏	抗利尿激素	水的再吸收
脂肪	肾上腺素、ACTH、胰高血糖素、TSH	甘油三酯的分解

cAMP 依赖的蛋白激酶（PKA）介导 cAMP 的大多数效应

尽管 cAMP 能直接激活某些高度特化细胞的质膜上某些类型的离子通道，但是在大多数动物细胞中，cAMP 主要通过激活依赖于 **cAMP 的蛋白激酶（cycliC-AMP-dependent protein kinase，PKA）**行使其功能。PKA 催化 ATP 的末端磷酸基团转移到靶蛋白上特定的丝氨酸或苏氨酸，从而调控靶蛋白活性。

PKA 存在于所有的动物细胞中，被认为能解释大多数细胞中 cAMP 的效应。在不同细胞类型中，PKA 的底物不同，这解释了为何 cAMP 的效应因不同的细胞类型而有很大不同。

在无活性状态，PKA 是由两个催化亚基和两个调控亚基组成的复合体。cAMP 与调控亚基结合后改变调控亚基的构象，导致调控亚基从复合体中解离。释放的催化亚基被活化从而磷酸化特定的底物蛋白质分子（图 15-32）。PKA 的调控亚基对于细胞内激酶的定位也是重要的：特异的 PKA 锚定蛋白结合调控亚基和膜或细胞骨架中的某个组分，从而将酶复合体固定在某个特定的亚细胞区域。某些 PKA 锚定蛋白也结合其他激酶和某些磷酸酶，形成一个信号传递复合体。

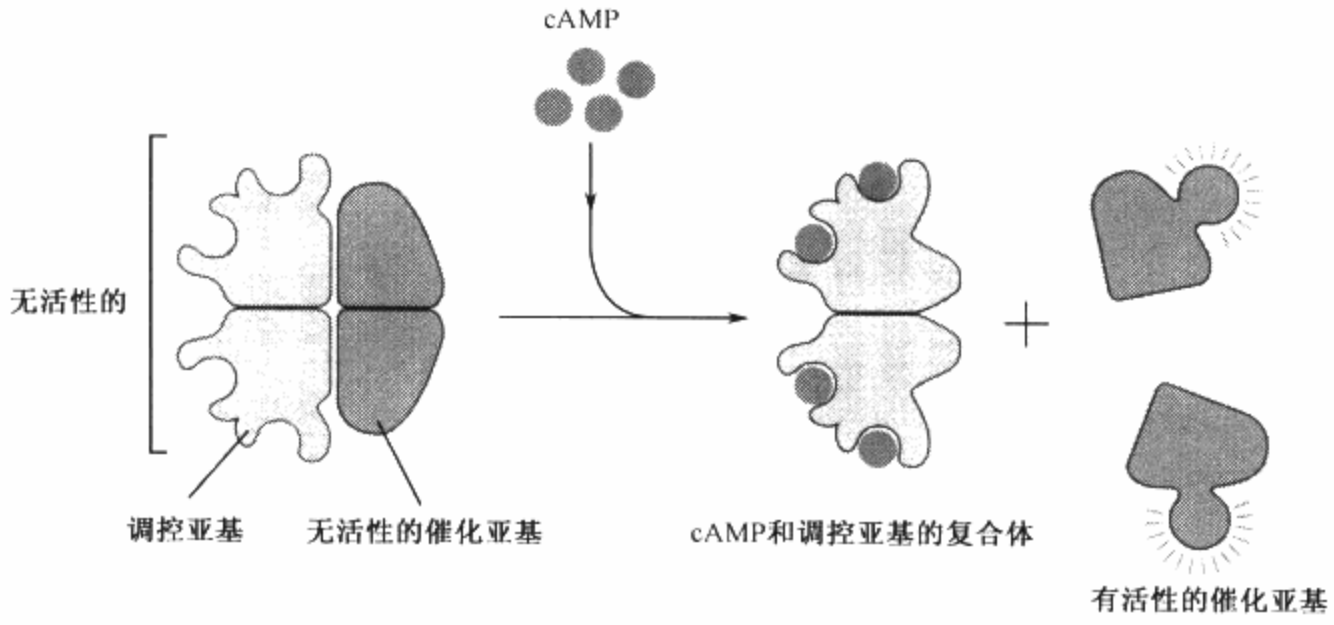


图 15-32　cAMP 依赖的蛋白激酶（PKA）的活化

cAMP 与调控亚基的结合诱导构象变化，导致这些亚基从催化亚基解离，从而激活催化亚基的激酶活性。催化亚基的释放需要两个以上的 cAMP 分子与四聚体中调控亚基结合。这种需要大大地使激酶对 cAMP 浓度变化的反应变得强烈。哺乳动物细胞至少具有两种类型的 PKA：类型Ⅰ主要位于细胞质，而类型Ⅱ通过其调控亚基和特异的锚定蛋白与质膜、核膜、线粒体外膜和微管结合。然而，在所有情况下，一旦催化亚基游离并有活性，它们能迁移到细胞核（在细胞核它们能磷酸化基因调控蛋白），而调控亚基保留在细胞核。PKA 催化亚基蛋白激酶结构域的三维结构如图 3-64 所示

cAMP 介导的某些细胞反应迅速而其他细胞反应则缓慢。例如，在骨骼肌细胞中，活化的 PKA 磷酸化参与糖原代谢的酶，同时引发糖原降解为葡萄糖并抑制糖原的生成，从而数秒内增加肌肉细胞可利用的葡萄糖量（图 15-30）。另一极端是需要数小时的细胞反应，这些细胞反应需要特异基因的转录变化。例如，在分泌肽激素生长激素释放抑制因子的细胞中，cAMP 激活编码该激素的基因。生长激素释放抑制因子基因的调控区域含有称为 cAMP 应答元件（CRE）的短 DNA 序列，CRE 也存在于 cAMP 激活的许多其他基因中。一个称为 **CRE 结合（CREB）蛋白（CRE-binding protein）**的特异基因调控蛋白识别该序列。当 CREB 被 PKA 在单个丝氨酸磷酸化时，CREB 招募一个称为 CREB 结合蛋白（CBP）的转录辅激活蛋

白，CBP 激活这些基因的转录（图 15-33）。如果该丝氨酸被突变，CREB 不能招募 CBP。在针对 cAMP 浓度增加的细胞反应中 CREB 不再激活基因转录。

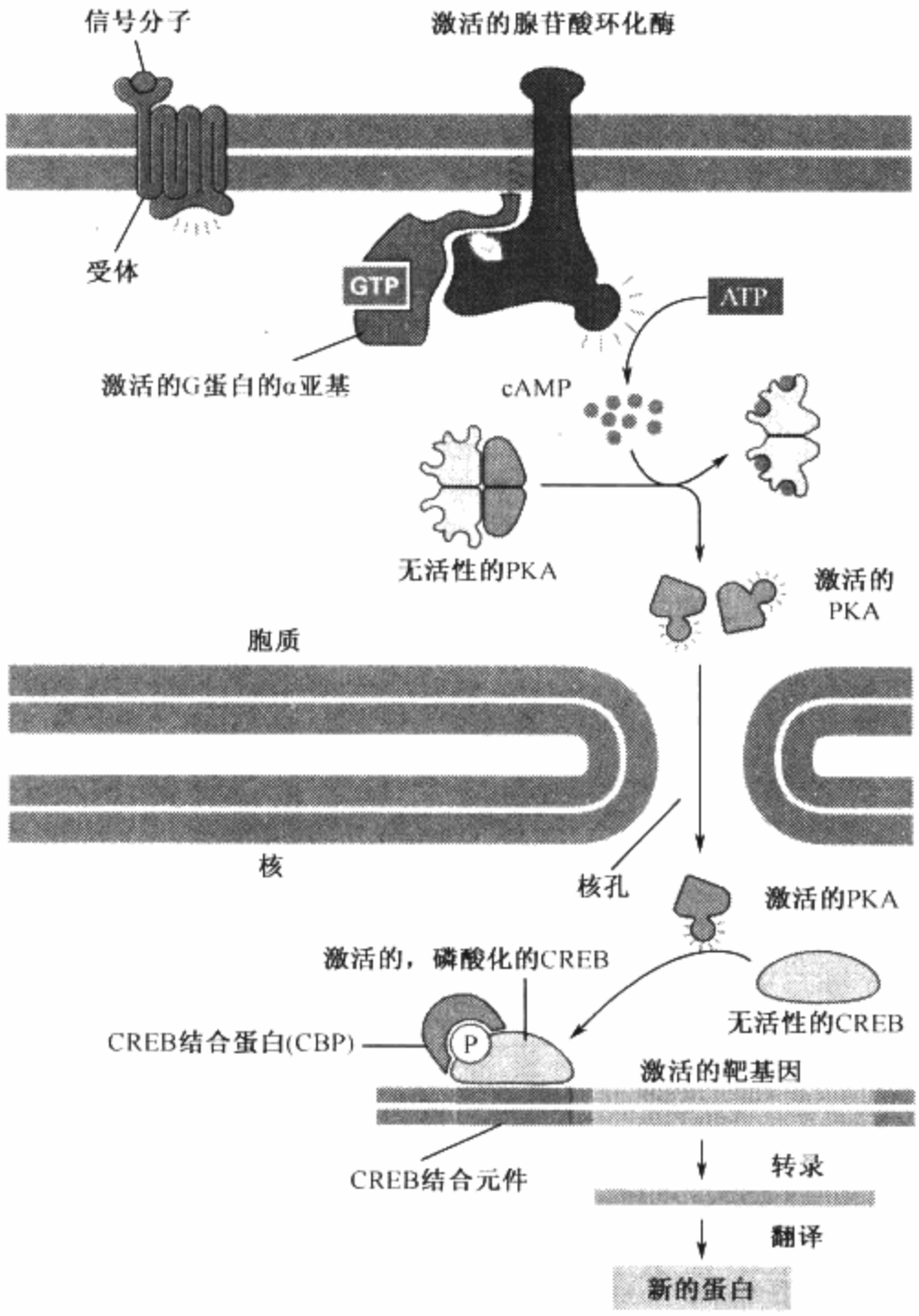


图 15-33　基因转录是如何被 cAMP 浓度的升高激活的

胞外信号分子与 G 蛋白偶联受体的结合导致腺苷酸环化酶的激活和 cAMP 浓度的升高。cAMP 浓度的增加激活胞质内的 PKA，释放的催化亚基再迁移到细胞核，在细胞核磷酸化 CREB 基因调控蛋白。一旦磷酸化后，CREB 招募辅激活蛋白 CBP，CBP 激活基因转录。该信号传递途径控制细胞内的许多过程，从内分泌细胞内激素的合成到脑内长时性记忆所需要的蛋白质的合成。我们随后将介绍由胞内 Ca^{2+} 的升高激活的某些激酶也能磷酸化从而激活 CREB

蛋白磷酸酶使得 PKA 和其他蛋白激酶的作用瞬时

既然 cAMP 的作用通常是瞬时的，那么细胞必须能够将 PKA 磷酸化的蛋白质去磷酸化。事实上，由磷酸化调控的任何蛋白质的活性取决于任意时刻激酶和磷酸酶之间的平衡。磷酸化的丝氨酸和苏氨酸的去磷酸化是由 4 种**丝氨酸/苏氨酸磷酸蛋白磷酸酶（serine/threonine phosphorotein phosphatase）**催化的，即蛋白磷酸酶Ⅰ、ⅡA、ⅡB 和ⅡC。除了蛋白磷酸酶Ⅱ

C（它是一种次要的磷酸酶，与其他磷酸酶不相关）以外，所有其他蛋白磷酸酶是由同源的催化亚基与一个或多个调控亚基结合组成的。调控亚基控制磷酸酶活性，并使酶选择特异的靶蛋白。蛋白磷酸酶Ⅰ负责去磷酸化许多已被 PKA 磷酸化的蛋白质。例如，蛋白磷酸酶Ⅰ失活 CREB 是通过去除 CREB 的活化磷酸，从而关闭 cAMP 浓度升高引起的转录反应。蛋白磷酸酶ⅡA 具有广谱的特异性，似乎是主要负责去磷酸化由丝氨酸/苏氨酸激酶催化的许多磷酸化。蛋白磷酸酶ⅡB，也称神经钙蛋白，是由 Ca^{2+} 激活的，在脑中含量特别丰富。

介绍了三亚基 G 蛋白如何连接活化的受体与腺苷酸环化酶后，我们现在介绍 G 蛋白如何偶联活化的受体与另一个关键酶磷脂酶 C。磷脂酶 C 的活化导致胞质内 Ca^{2+} 浓度的升高。Ca 浓度的升高将信号传递下去。与 cAMP 相比，Ca^{2+} 被更为广泛地用作胞内调质。

某些 G 蛋白通过激活磷脂酶 C-β 激活肌醇磷脂信号传递途径

许多 G 蛋白偶联受体主要通过激活与质膜结合的**磷脂酶 C-β（phospholipase C-β）**行使它们的功能。表 15-2 列举了几个以这种方式激活的反应。磷脂酶作用于一种称为**磷脂酰肌醇 4，5-二磷酸［PI（4，5）P_2］（phosphatidylinositol 4，5-bisphosphate）**的肌醇磷脂（一种磷酸肌醇）它少量存在于质膜脂双层的内侧（图 15-34）。通过**肌醇磷脂信号传递途径（inositol phospholipid signaling pathway）**起作用的受体主要激活一种称为 G_q 的 G 蛋白，G_q 再激活磷脂酶 C-β，其作用方式与 G_s 激活腺苷酸环化酶相同。活化的磷脂酶切割 PI（4，5）P_2 产生两个产物：肌醇 1，4，5-三磷酸和二酰基甘油（图 15-35）。在这一步，信号传递途径分成两支。

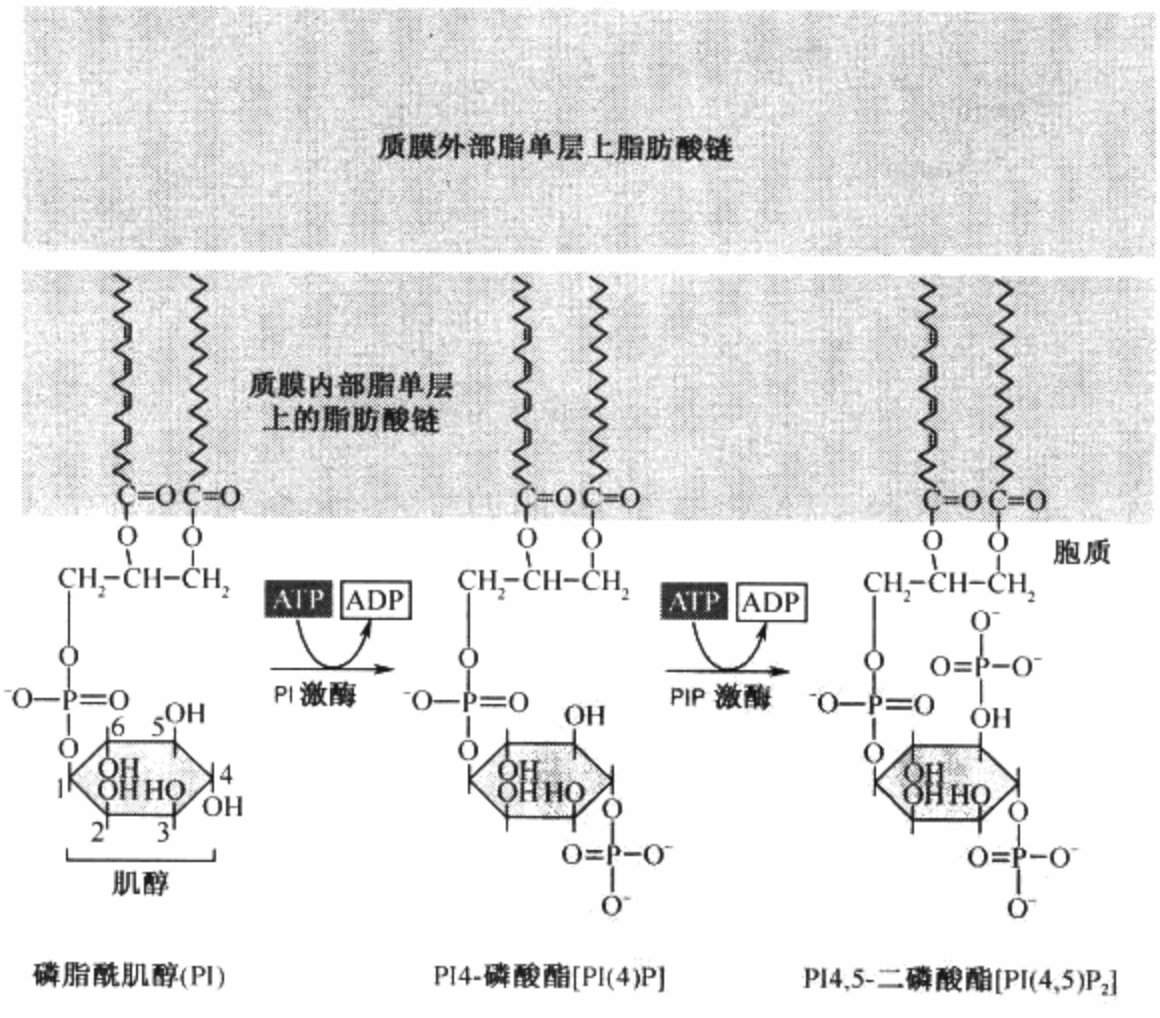


图 15-34　三种肌醇磷脂（磷酸肌醇）

多磷酸肌醇 PI（4）P 和 PI（4，5）P_2 是分别由磷脂酰肌醇（PI）和 PI（4）P 的磷酸化产生的。尽管所有的三种肌醇磷脂在一个信号传递反应中可能被分解，但 PI（4，5）P_2 的分解是最关键的，因为它产生两种胞内调质，如下面的两个图所示。然而，PI（4，5）P_2 是含量最少的，在一个细胞中占总肌醇磷脂的不到 10%和总磷脂的不到 1%。PI 分子上肌醇环内的碳原子的常规编号以红色编号标注

表 15-2　G 蛋白偶联受体激活肌醇磷脂信号传递途径中的某些细胞反应

靶组织	信号分子	主要反应
肝脏	抗利尿激素	糖原的分解
胰腺	乙酰胆碱	淀粉酶的分泌
平滑肌	乙酰胆碱	收缩
血小板	凝血酶素	聚集

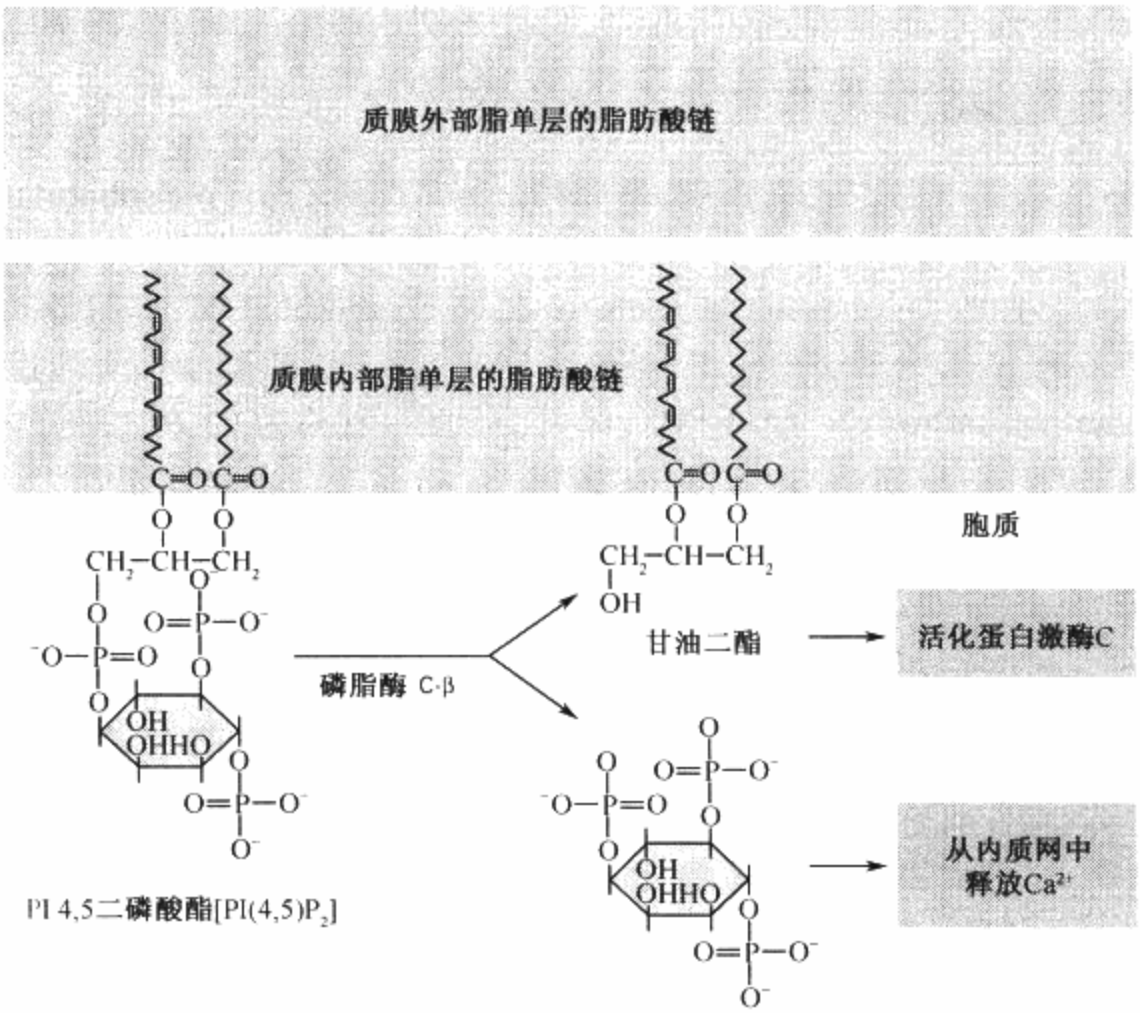


图 15-35　由磷酸脂酶 C-β 催化的 PI（4，5）P_2的水解

当 PI（4，5）P_2被水解，产生两个胞内调质：肌醇 1,4,5-三磷酸酯（IP_3）和甘油二酯，IP_3在整个胞质内扩散，从 ER 中释放 Ca^{2+}；甘油二酯保留在膜上，有助于激活蛋白激酶 C（图 15-36）。至少有三类磷脂酶 C，即 β、γ 和 σ、β 类是被 G 蛋白偶联受体激活的。我们后面将介绍 γ 类是被称为受体酪氨酸激酶的第二类受体激活的，该受体激活肌醇磷脂信号传递途径不需要中间的 G 蛋白的参与

肌醇 1,4,5-三磷酸酯（inositol 1,4,5-trisphosphate，IP_3）是一种小的水溶性分子，它能离开质膜，在胞质内迅速扩散。当 IP_3到达内质网（ER）时，它结合并打开 IP_3门控 Ca^{2+}释放通道，迅速升高胞质内 Ca^{2+}的浓度（图 15-36）。我们将在后面介绍 Ca^{2+}如何作用以传递信号。几种机制终止起始的 Ca^{2+}应答：①IP_3迅速被特定的磷酸酶去磷酸化形成 IP_2；②IP_3被磷酸化成 IP_4（IP_4可能充当另一个胞内介质）；③进入胞质的 Ca^{2+}被迅速地泵出，主要泵到细胞外面。

由 PI（4，5）P_2水解产生的 IP_3在增加胞质内 Ca^{2+}浓度的同时，PI（4，5）P_2的另一个切割产物**二酰基甘油（diacylglycerol）**行使不同的作用。二酰基甘油嵌入细胞膜，具有两个

潜在的信号传递作用。首先，二酰基甘油可被进一步切割释放花生四烯酸，花生四烯酸能自身充当信使，或能被用来合成其他称为类花生酸类物质的小脂信使。大多数脊椎细胞类型合成类花生酸类物质（如前列腺素），具有许多生物学活性。例如，类花生酸类物质参与疼痛和炎症反应，大多数抗炎症药物（如阿司匹林、布洛芬和肾上腺皮质素）至少部分是通过抑制类花生酸类物质的合成起作用的。

二酰基甘油的第二种更为重要的功能是激活一种称为**蛋白激酶 C（protein kinase C，PKC）**的关键丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，之所以称为 PKC 是因为它是 Ca^{2+} 依赖的。IP_3 引发的胞质 Ca^{2+} 起始升高改变 PKC，PKC 从胞质溶胶转到质膜的胞质侧，在那里 PKC 在 Ca^{2+}、二酰基甘油以及带负电荷的膜脂磷脂酰丝氨酸的共同作用下被激活（图 15-36）。一旦激活，PKC 磷酸化靶蛋白，靶蛋白依细胞类型而不同。PKC 作用的原理与前面介绍的 PKA 相同，但大多数靶蛋白不同。

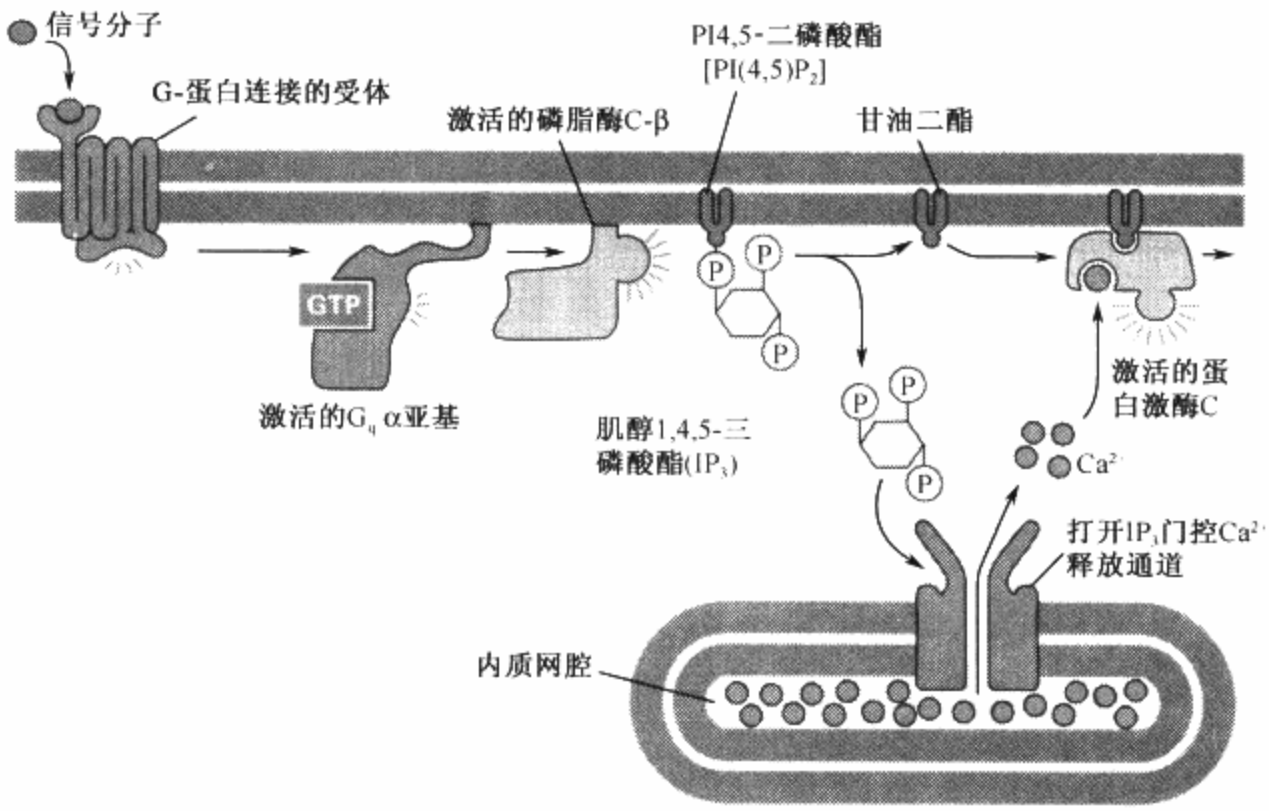


图 15-36　肌醇磷脂途径的两个分支

活化的受体通过 G 蛋白激活质膜结合的磷脂酶 C-β。取决于该酶的异形体，它可以被 G_q（如图所示）的 α 亚基激活，被另一个 G 蛋白的 βγ 复合体激活，或被两者激活。当 PI（4，5）P_2 被活化的磷脂酶 C-β 水解时产生两个胞内信使分子。肌醇 1,4,5-三磷酸酯（IP_3）在整个胞质内扩散，通过结合并打开内质网膜上的 IP_3 门控 Ca^{2+} 释放通道从内质网释放 Ca^{2+}。跨内质网膜的大的 Ca^{2+} 电化学梯度导致 Ca^{2+} 进入细胞质。甘油二酯保留在质膜内，与磷脂酰丝氨酸（图中未标注）和 Ca^{2+} 一起有助于激活蛋白激酶 C，蛋白激酶 C 从胞质溶胶被招募质膜的胞质面。11 个或更多的 PKC 异形体中至少 4 个被甘油二酯激活

肌醇磷脂信号传递途径的两个分支中的每一个都可通过向完整细胞加入特定的药物得到模拟。使用 Ca^{2+} 载体（如 A2318）或伊屋诺霉素，能模拟 IP_3 的作用，Ca^{2+} 载体允许 Ca^{2+} 从胞外液体流入胞质内（讨论见第 11 章）。植物产物佛波醇酯能模拟甘油二酯的作用，佛波醇酯结合 PKC 并直接激活 PKC。使用这些药物表明肌醇磷脂信号传递通路的两条分支经常协作以产生一个完全的细胞反应。例如，某些细胞类型，如淋巴细胞，当用 Ca^{2+} 和 PKC 激活物处理时能被激活，但当单独用一种试剂时则不被激活。

Ca^{2+}充当一个广泛存在的胞内信使

许多胞外信号诱导胞质 Ca^{2+} 水平的升高，并不只是那些通过 G 蛋白起作用的信号。例如，在卵细胞中，在被精细胞受精时，胞质 Ca^{2+} 浓度的突然升高引发 Ca^{2+} 波，Ca^{2+} 波负责发育的开始（图 15-37）。在肌肉细胞中，Ca^{2+} 引发收缩；在许多分泌细胞中，包括神经细胞，Ca^{2+} 引发分泌。Ca^{2+} 能以这种方式用作为一种信号，是因为胞质内 Ca^{2+} 浓度正常情况下非常低（约 10^{-7} mol/L），而胞外液体（约 10^{-3} mol/L）和 ER 腔内的 Ca^{2+} 浓度高。因此，存在大的梯度趋势驱动 Ca^{2+} 通过质膜和 ER 膜进入胞质。当信号瞬时打开质膜或 ER 膜上的 Ca^{2+} 通道时，Ca^{2+} 冲入胞质，增加局部 Ca^{2+} 浓度 10～20 倍，并引发细胞内 Ca^{2+} 应答蛋白。

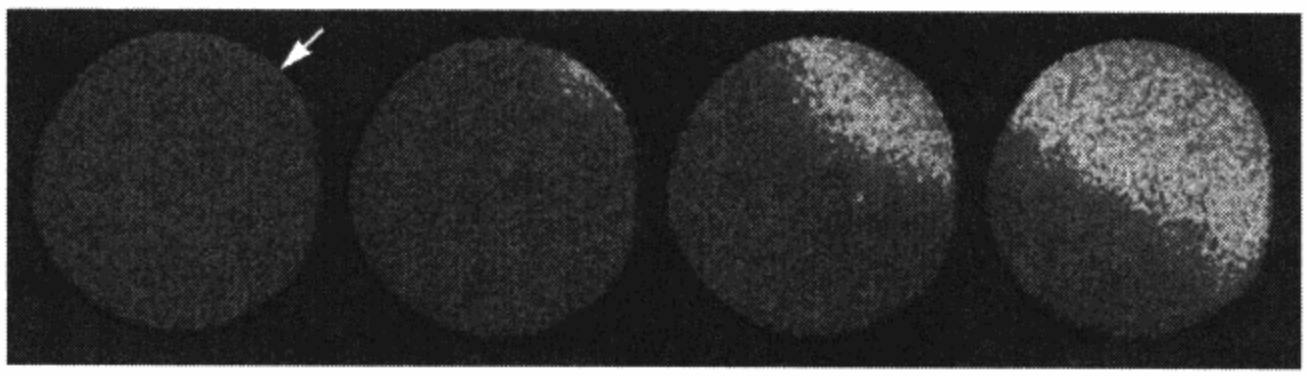


图 15-37　精子对卵细胞的受精引发胞质 Ca^{2+} 的增加

该海星卵细胞在受精前被注射 Ca^{2+} 敏感的荧光染料。从内质网释放的胞质 Ca^{2+} 波（红色）从精子进入（箭头）的位置被展开横过卵细胞。该 Ca^{2+} 波引起卵细胞表面的改变，阻止其他精子的进入，它也起始胚胎发育（讨论见第 20 章）（经 Stephen A. Stricker. 许可）

介导 Ca^{2+} 信号转导的三种主要的 Ca^{2+} 通道如下：

1. 电压依赖的 Ca^{2+} 通道位于质膜上，当膜去极化时打开，使 Ca^{2+} 能进入激活的神经末梢，并引发神经递质的释放。

2. IP_3 门控 Ca^{2+} 释放通道当肌醇磷脂信号传递途径活化时，使 Ca^{2+} 能从 ER 释放出来，这一点刚介绍（图 15-36）。

3. ryanodine 受体（之所以这样命名是因为它们对植物碱 ryanodine 敏感）对质膜电位的变化做出反应以从肌质网中释放 Ca^{2+}，从而促进肌肉细胞的收缩。它们也存在于许多非肌肉细胞的 ER 内，包括神经元，ryanodine 受体在神经元中促进 Ca^{2+} 信号传递。

静息细胞胞质内 Ca^{2+} 通过几种机制被维持低浓度（图 15-38）。最明显的是，所有的真核细胞质膜上具有一个 Ca^{2+} 泵，利用 ATP 的能将 Ca^{2+} 泵出胞质。在质膜上具有另一个 Ca^{2+} 转运蛋白（交换蛋白），偶联 Ca^{2+} 的外流和 Na^+ 的内流。ER 膜上的 Ca^{2+} 泵也在维持低的胞质 Ca^{2+} 浓度中起重要作用。该 Ca^{2+} 泵使 ER 能在很大的浓度梯度从胞质中摄取大量的 Ca^{2+}，甚至当胞质内 Ca^{2+} 浓度低。此外，线粒体内膜上低亲和力高容量的 Ca^{2+} 泵在恢复 Ca^{2+} 浓度到正常水平中起重要作用。在一个 Ca^{2+} 信号后，它利用跨膜的电化学梯度从胞质中摄取 Ca^{2+}，该电化学梯度是在氧化磷酸化的电子转移步骤中产生的。

Ca^{2+}振荡的频率影响细胞反应

Ca^{2+} 敏感的荧光指示剂，如水母素或 fura-2（讨论见第 9 章），经常被用来检测在肌醇磷脂信号传递途径被激活后单个细胞内胞质 Ca^{2+}。当通过这种方式观察时，所看的起始的 Ca^{2+}

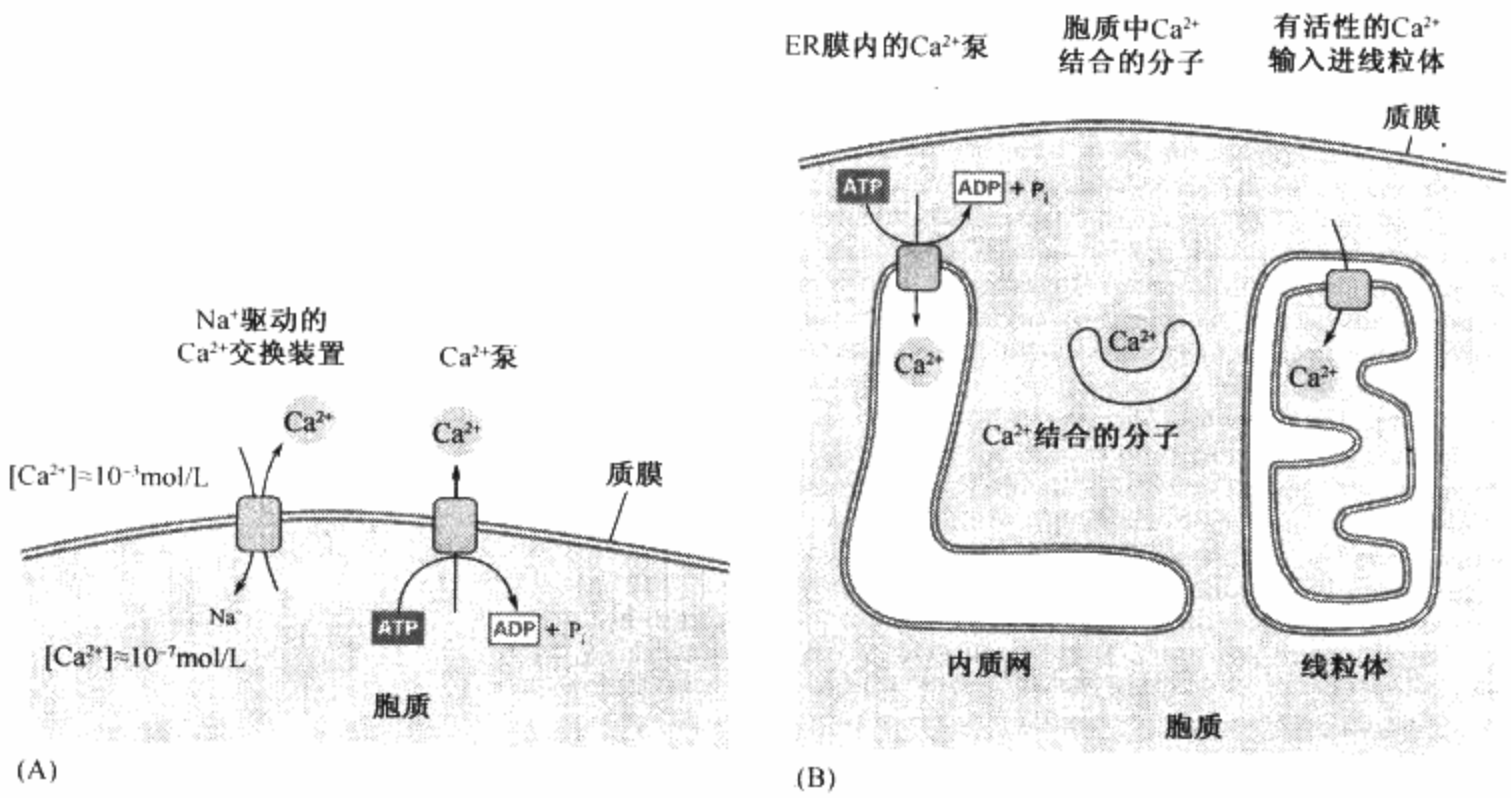


图 15-38　真核细胞维持非常低的胞质游离 Ca^{2+} 浓度的主要方式

（A）Ca^{2+} 被主动泵出胞质到细胞外部。（B）Ca^{2+} 被泵入 ER 和线粒体，细胞内各种分子紧紧地结合游离的 Ca^{2+}

信号经常是小的定位于细胞的一个或更多个不连续的区域。这些信号被称为 Ca^{2+} 发射脉冲、夸克、胀泡或火花，这些信号被认为反映单个（或小群）ER 内的 Ca^{2+} 释放通道和代表基本的 Ca^{2+} 信号传递单位。如果胞外信号足够强并且持续，该局部信号能以可再生的 Ca^{2+} 波在胞质内传播，非常像轴突中的动作电位（图 15-37）。这种 Ca^{2+} “火花”经常尾随一系列的进一步火花，每个火花通常持续数秒（图 15-39）。这些 Ca^{2+} 振荡能持续的时间与细胞表面受体被激活的时间一样长。Ca^{2+} 波 和 Ca^{2+} 振荡都被认为至少部分依赖于 Ca^{2+} 对 IP_3 门控 Ca^{2+} 释放通道和 ryanodine 受体的正反馈和负反馈的组合：释放的 Ca^{2+} 最初促进更多 Ca^{2+} 的释放，这一过程称为 Ca^{2+} 诱导的 Ca^{2+} 释放 。但是，随着 Ca^{2+} 浓度变得足够高，便开始抑制进一步的 Ca^{2+} 释放。

Ca^{2+} 振荡的频率反映胞外刺激的强度（图 15-39），它被转变成频率依赖的细胞反应。在某些情况下，频率依赖的反应本身也是振荡的。例如，在分泌激素的垂体细胞中，胞外信号的刺激诱导重复的 Ca^{2+} 火花，每个火花与激素的突然分泌相关。频率依赖的反应也能是非振荡的。例如，在某些类型细胞中，一种频率的 Ca^{2+} 火花激活一套基因的转录，而更高的频率则激活另一套不同的基因的转录。细胞是如何感知 Ca^{2+} 火花的频率并相应地改变它们的反应呢？机制可能依赖于 Ca^{2+} 敏感蛋白（以 Ca^{2+} 火花的频率为函数改变它们的活性）。一种充当分子记忆装置的蛋白激酶似乎具有这种显著的性质，我们接下来介绍。

Ca/钙调蛋白依赖的蛋白激酶（CaM-激酶）介导动物细胞中 Ca^{2+} 的许多作用

Ca^{2+} 结合蛋白充当胞质 Ca^{2+} 信号的转导蛋白。第一个被发现的 Ca^{2+} 结合蛋白是骨骼肌细胞中的肌钙蛋白 C；第 16 章中已介绍它在肌肉收缩中的作用。一个称为**钙调蛋白（calmodulin）**的非常相关的 Ca^{2+} 结合蛋白存在于所有真核细胞中，钙调蛋白能占 1%的细胞总蛋白质质量。钙调蛋白充当多功能的胞内 Ca^{2+} 受体，介导许多受 Ca^{2+} 调控的过程。钙调蛋白是由

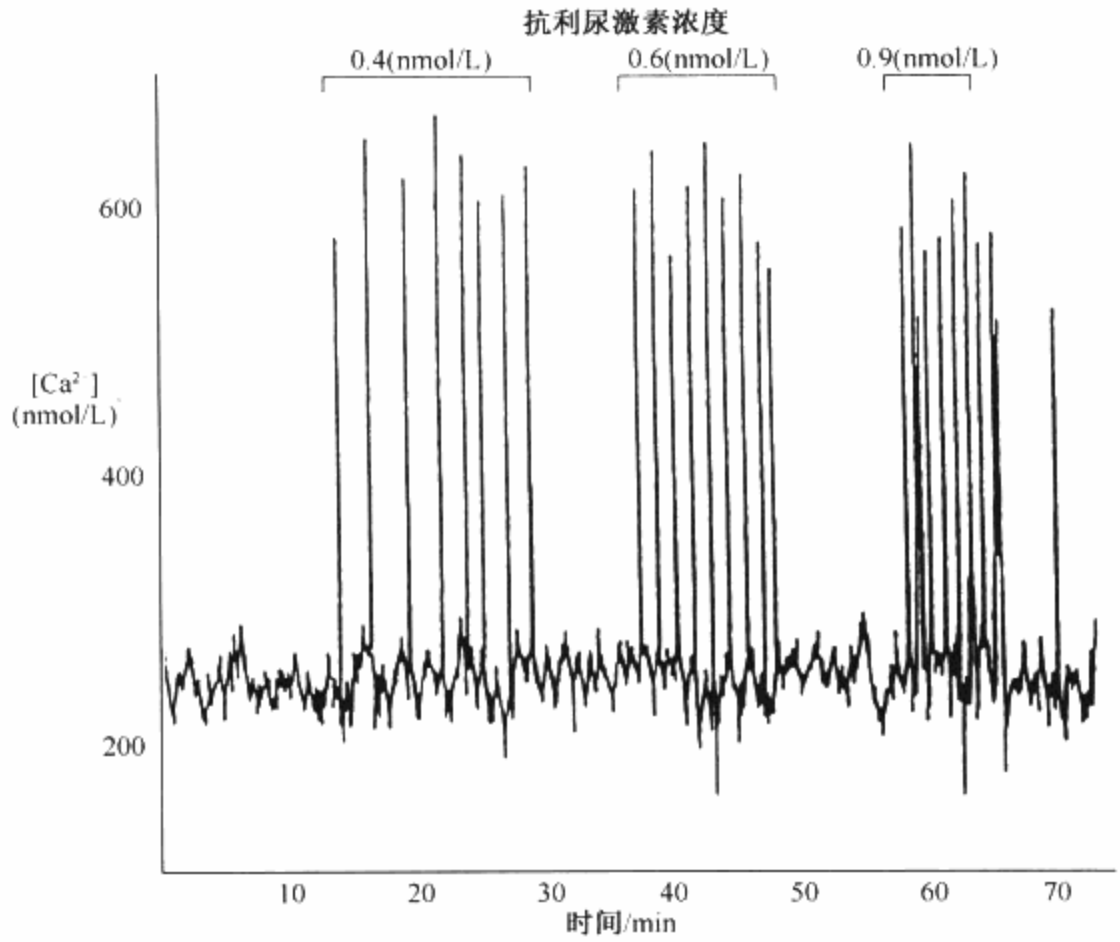


图 15-39　肝细胞中抗利尿激素诱导的 Ca^{2+} 振荡

将 Ca^{2+} 敏感蛋白水母素导入细胞，再让细胞接触浓度渐增的抗利尿激素。注意随着抗利尿激素浓度的增加 Ca^{2+} 火花的频率增加，但火花的幅度并不受影响（摘自 N. M. Woods, K. S. R. Cuthbertson, and P. H. Cobbold, *Nature* 319: 600～602, 1986）

高度保守的单多肽链组成，该多肽链具有 4 个高亲和力的 Ca^{2+} 结合位点［图 14-40（A）］。当被结合的 Ca^{2+} 激活时，钙调蛋白进行构象变化。因为钙调蛋白采取活性构象前必须结合两个或多个的 Ca^{2+}，所以钙调蛋白以开关类似的方式应答 Ca^{2+} 浓度的增加（图 15-22）。例如，Ca^{2+} 浓度增加 10 倍通常导致钙调蛋白激活增加 50 倍。

Ca^{2+} 对钙调蛋白的异构激活与 cAMP 对 PKA 的异构激活类似，虽然 Ca^{2+}/钙调蛋白本身没有酶活性，但它通过结合其他蛋白质起作用。在某些情况下，钙调蛋白充当酶复合体的永久调控亚基，但大多数情况下 Ca^{2+} 的结合使钙调蛋白能结合细胞内不同的靶蛋白并调控它们的活性。

当活化的 Ca/钙调蛋白分子结合其靶蛋白，它进行明显的构象变化［图 15-40（B）］。在受钙调蛋白结合调控的靶分子中有许多酶和膜转运蛋白。例如，Ca^{2+}/钙调蛋白结合并激活质膜上的 Ca^{2+} 泵，将 Ca^{2+} 泵出细胞。因此，无论何时胞质中 Ca^{2+} 浓度升高，Ca^{2+} 泵被激活，有助于恢复胞质 Ca^{2+} 水平到正常水平。

然而，Ca^{2+} 的许多效应更为间接，是受蛋白磷酸化介导的，蛋白磷酸化是由 **Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶（Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase，CaM 激酶）**。正如 PKA 和 PKC 一样，这些激酶磷酸化蛋白上的丝氨酸或苏氨酸，与 PKA 和 PKC 一样，靶细胞的反应取决于 CaM 激酶调控的靶蛋白是存在于细胞中。第一个被发现的 CaM 激酶肌球蛋白轻链激酶（激活平滑肌的收缩）和磷酸酶激酶（激活糖原的降解）具有狭窄的底物特异性。然而，许多 CaM 激酶具有更宽的特异性，这些 CaM 激酶似乎介导动物细胞中 Ca^{2+} 的许多作用。某些 CaM 激酶磷酸化基因调控蛋白，如前面介绍的 CREB 蛋白，通过这种方式激活或抑制特异

基因的转录。

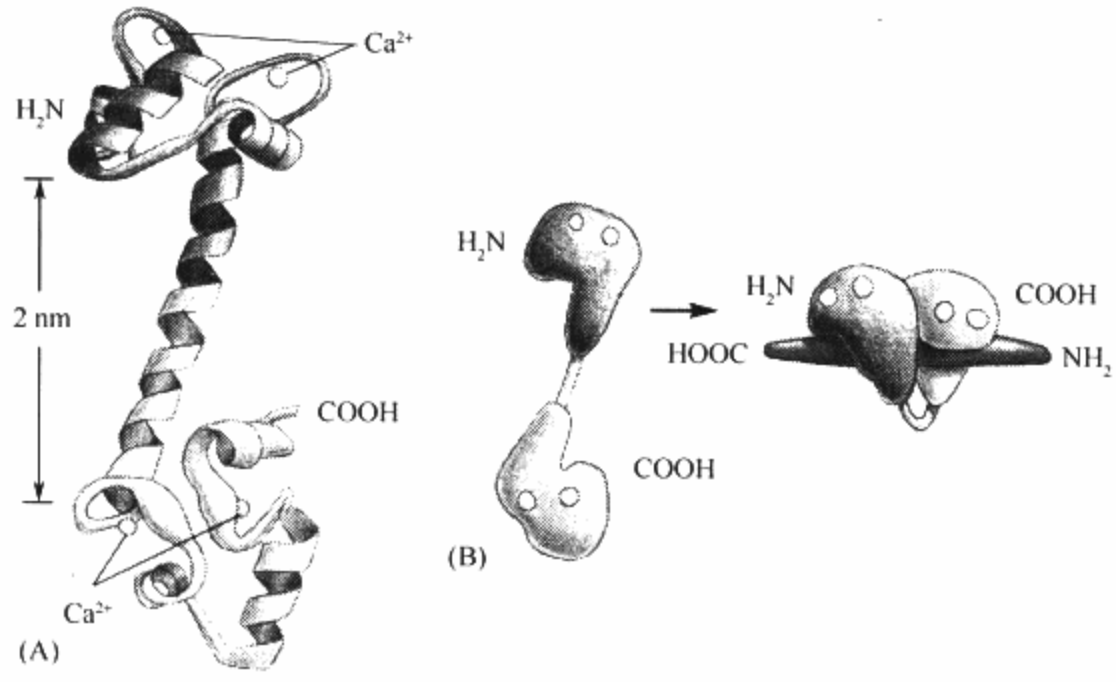


图 15-40　以 X 射线衍射和 NMR 研究为基础的 Ca^{2+}/钙调蛋白结构

（A）该分子成哑铃形状，具有由一个长的暴露的 α 螺旋连接的两个球状末端。每个末端具有两个 Ca^{2+} 结合结构域，每个结构域具有一个 12 个氨基酸的环，在这个环内天冬氨酸和谷氨酸的侧链与 Ca^{2+} 形成离子键。与该分子 N 端的这两个 Ca^{2+} 结合位点相比，C 端的这两个 Ca^{2+} 结合位点对 Ca^{2+} 具有 10 倍的亲和力。在溶液中，该分子是能变形的，表现出很多形式，从展开的（如图所示）到更为紧凑的。（B）当它结合靶蛋白时 Ca^{2+}/钙调蛋白发生的主要结构变化（在这个例子中，靶蛋白是由 Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶的 Ca^{2+}/钙调蛋白结合结构域组成的肽）。注意 Ca^{2+}/钙调蛋白具有“大折刀”环绕该肽［（A），根据 X 射线晶体学数据摘自 Y. S. Babu et al.，*Nature* 315：37～40，1985；（B），根据 X 射线晶体学数据摘自 W. E. Meador，A. R. Means，and F. A. Quiocho，*Science* 257：1251～1255，1992，和摘自 M. Ikura et al.，*Science* 256：632～638，1992. © AAAS. 的 NMR 数据）］

这种多功能 CaM 激酶的研究最详细的例子是 **CaM 激酶Ⅱ（CaM-kinase Ⅱ）**，它存在于所有动物细胞中，但神经系统中特别丰富。CaM 激酶Ⅱ在脑的某些区域多于蛋白质总量的 2%，在突触中高度浓缩。CaM 激酶Ⅱ具有至少两种相关的显著性质。第一，CaM 激酶Ⅱ充当一种分子记忆装置，当接触 Ca^{2+}/钙调蛋白时转换为活性状态，然后保持活性甚至在 Ca^{2+} 信号消失后。这是因为当 CaM 激酶Ⅱ被 Ca^{2+}/钙调蛋白激活时，该激酶磷酸化其自身（一种称为自磷酸化的过程）以及其他的细胞蛋白。在自磷酸化状态，该酶保持活性甚至在缺乏 Ca^{2+} 的情况下，从而延长该激酶活性的持续时间，超过起始活化的 Ca^{2+} 信号的持续时间。该活性维持直至磷酸酶超过起始活化的该酶的自磷酸化活性并关闭自磷酸化活性（图 15-41）。因此，CaM 激酶Ⅱ的活化能充当 Ca^{2+} 脉冲的记忆，并可能在脊椎动物的神经系统中的某些类型记忆和学习中具有重要作用。缺失脑特异亚基的突变小鼠（图 15-41）在记住物体的空间位置的能力具有特异的缺陷。CaM 激酶Ⅱ中去除其自磷酸化位点但保留完整的激酶活性的点突变产生相同的学习缺陷，表明在这些动物中自磷酸化是关键的。

CaM 激酶Ⅱ的第二个显著性质是它能使用其记忆机制以充当 Ca^{2+} 振荡的频率解码器。该性质被认为在神经细胞突触尤其重要，活化的突触后细胞的胞内 Ca^{2+} 水平变化能导致突触的随后效应的长期变化（讨论见第 11 章）。当 CaM 激酶Ⅱ被固定在固体表面并与蛋白磷酸酶和重复脉冲的 Ca^{2+}/钙调蛋白接触时，以不同频率模拟受刺激的细胞中所观察到的，该酶活性作为脉冲频率的函数突然升高（图 15-42）。此外，该多亚基酶的频率应答依赖于其准确的亚

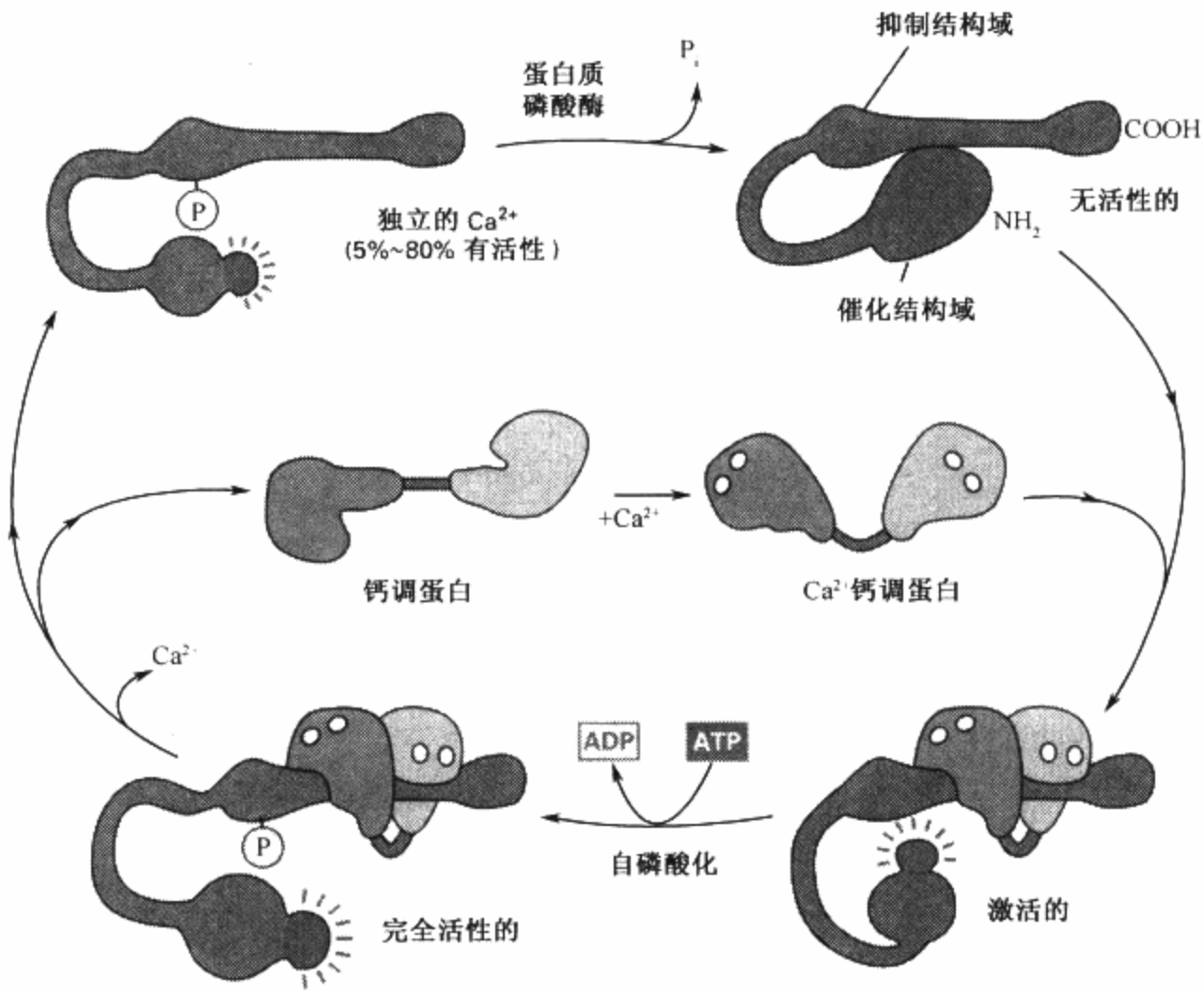


图 15-41　CaM 激酶Ⅱ的激活

CaM 激酶Ⅱ是一个由大约 12 个亚基组成的大的蛋白质复合体，但为了简单化，只标出一个亚基。这些亚基属于 4 种同源的类型（α、β、γ 和 σ），它们在不同的细胞类型中以不同的比例表达。在没有 Ca^{2+}/钙调蛋白时，因为抑制结构域和催化结构域之间的相互作用，该酶是无活性的。Ca^{2+}/钙调蛋白的结合改变了该蛋白质的构象，使催化亚基能磷酸化复合体中相邻亚基的抑制结构域以及细胞中其他蛋白质（未标出）。该酶复合体的自磷酸化（其亚基的相互磷酸化）通过两种方式延长了该酶的活性。首先，它捕获了与其结合的该酶复合体的 Ca^{2+}/钙调蛋白，从而直到胞质 Ca^{2+} 浓度恢复到基本值至少 10s（未标出）后它才从酶复合体中解离。第二，它将该酶转变为不依赖于 Ca^{2+} 的形式，从而该酶即使在 Ca^{2+}/钙调蛋白解离后仍保持活性。这种活性一直持续到自磷酸化过程被蛋白磷酸酶消除为止

基组成，所以细胞通过调节细胞合成的 CaM 激酶Ⅱ的组成，使其对 Ca^{2+} 振荡的反应适应特殊需要。

某些 G 蛋白直接调控离子通道

G 蛋白并不是通过调控膜结合酶的活性起作用，该膜结合的酶改变胞质中 cAMP 或 Ca^{2+} 的浓度。例如，一种 G 蛋白（称为 G_{12}）的 α 亚基激活一种蛋白质，该蛋白质将 Rho 家族的单亚基 GTP 酶改变为活化状态，从而改变肌动蛋白的细胞骨架。在某些其他情况下，G 蛋白直接激活或失活靶细胞质膜上的离子通道，从而改变离子的渗透性，因此改变膜的兴奋性。例如，迷走神经释放的乙酰胆碱降低心肌细胞的收缩速率和力量［图 15-19（A）］。激活前面介绍的 G_i 蛋白的一类特殊的乙酰胆碱受体介导这种效应。一旦活化后，G_i 的 α 亚基抑制腺苷酸环化酶（前面已介绍），而 βγ 复合体结合心肌细胞质膜上的 K^+ 通道以打开它们。这些

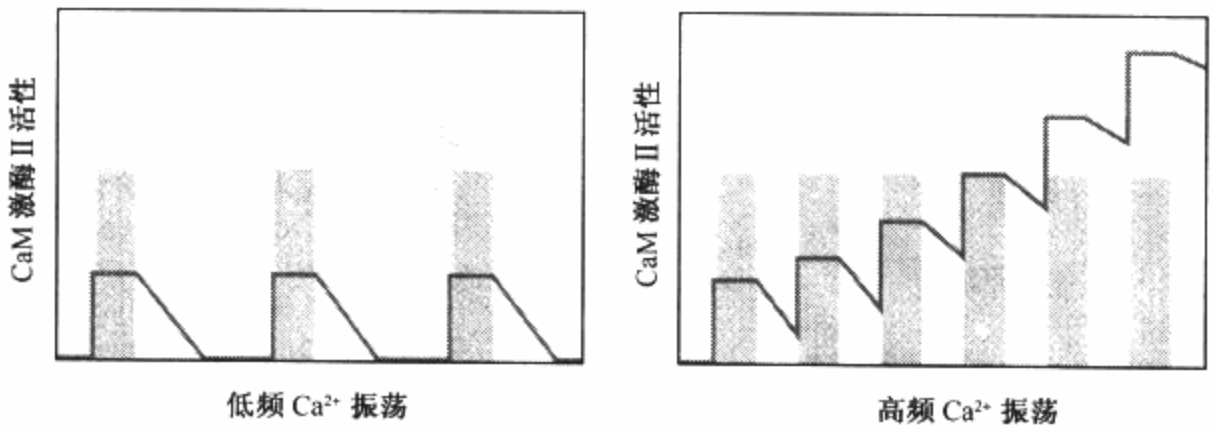


图 15-42　作为 Ca^{2+} 振荡的解码器的 CaM 激酶Ⅱ

（A）在低频率 Ca^{2+} 火花（灰条）情况下，CaM 激酶Ⅱ在每次火花后失活，因为 Ca^{2+}/钙调蛋白结合诱导的自磷酸化并不维持该酶的活性足够长，以至于下一个 Ca^{2+} 火花的到来之前该酶就无活性了。（B）然而，在高频率 Ca^{2+} 火花的情况下，该酶在两个 Ca^{2+} 火花之间未能完全失活，所以它的活性随着每次 Ca^{2+} 火花升高。如果火花频率足够高，酶活性的这种渐进增加将一直持续直至该酶的所有亚基被自磷酸化，因此被最大地激活。一旦足够的亚基被自磷酸化，该酶能维持高度活化的状态，甚至在相对低频率的 Ca^{2+} 火花（一种记忆形式）情况下该酶也能维持高度活化的状态。Ca^{2+}/钙调蛋白与该酶的结合被 CaM 激酶Ⅱ的自磷酸化（一种正反馈形式）增强，导致该酶对重复的 Ca^{2+} 火花的应答表现出频率反应中的高阈值，这一点在前面介绍过

K^+通道的打开使细胞去极化更难，这促使了乙酰胆碱对心脏的抑制效应（这些能被真菌生物碱蕈毒碱激活的乙酰胆碱受体被称为蕈毒碱乙酰胆碱受体，以区别于非常不同的烟碱乙酰胆碱受体，这些受体是骨骼肌细胞和神经细胞上的离子通道偶联受体，该受体被烟碱的结合和乙酰胆碱激活）。

其他的三体 G 蛋白更间接地调控离子通道的活性，或者通过促进通道磷酸化（如 PKA、PKC 或 CaM 激酶催化的），或者通过导致环核苷酸的产生或破坏。环核苷酸直接激活或失活离子通道。环核苷酸门控离子通道在嗅觉（嗅觉）和视觉中起重要作用，下面我们将详细介绍。

嗅觉和视觉依赖于调控环核苷酸门控离子通道的 G 蛋白偶联受体

人能区分 10 000 多种不同的气味，这些气味是由鼻内层中特化的嗅觉受体神经元检测。这些细胞通过特异的 G 蛋白偶联的嗅觉受体识别气味，这些嗅觉受体展示在从每个细胞延伸出去的修改的纤毛表面（图 15-43）。嗅觉受体通过 cAMP 起作用。当被气味物结合激活时，气味物激活一种嗅觉特异的 G 蛋白（称为 Golf），Golf 再激活腺苷酸环化酶。所导致的 cAMP 浓度的升高打开 cAMP 门控离子通道，从而允许 Na^+ 的内流，Na^+ 的内流去极化嗅觉受体神经元，并起始沿轴突传递到脑的神经脉冲。

小鼠有大约 1000 种不同的嗅觉受体。每一种嗅觉受体由一种不同的基因编码，识别一套不同的气味物。所有的这些受体属于 G 蛋白偶联受体超家族。每种嗅觉受体神经元只产生这 1000 个受体中的一个，神经元通过其展示的特异受体，对一套特异的气味物做出应答。相同受体也在指导每个发育的嗅觉神经元的延长的轴突到特异靶神经元中起重要作用，嗅觉神经元在脑内与靶神经元连接。一套不同的 100 多个 G 蛋白偶联受体以相似的方式作用以介导小鼠对信息激素的反应，信息激素是被用在相同类型的成员之间的信息交流，在小鼠不同的器

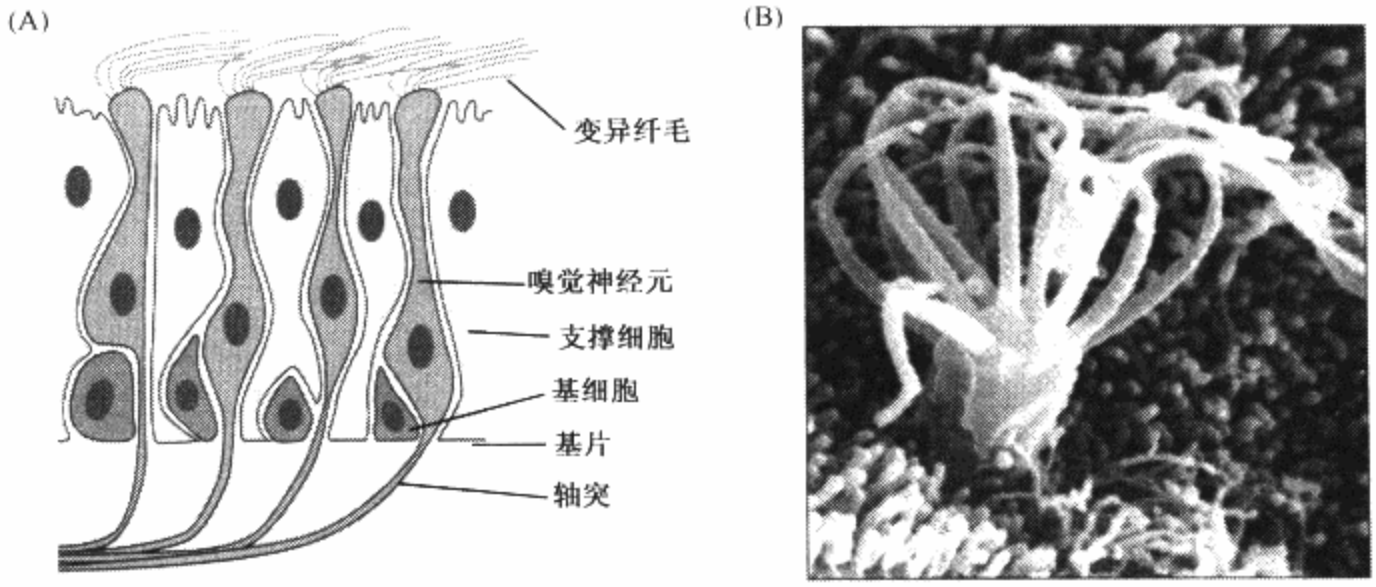


图 15-43　嗅觉感受神经元

（A）图片显示了鼻子里嗅觉上皮的一个切面。嗅觉受体神经元拥有改良过的纤毛，纤毛从上皮的表面突出出来，并含有嗅觉受体——作为信号传导工具。轴突从受体神经元对立的末端沿伸出来。当细胞受到气味分子激活产生动作电位时，轴突将电信号传到大脑。基细胞类似于干细胞，终生产生新的受体神经元，以替代死亡的神经元。（B）嗅觉神经元表面纤毛的扫描电子显微镜照片

官中检测到的化学信号。

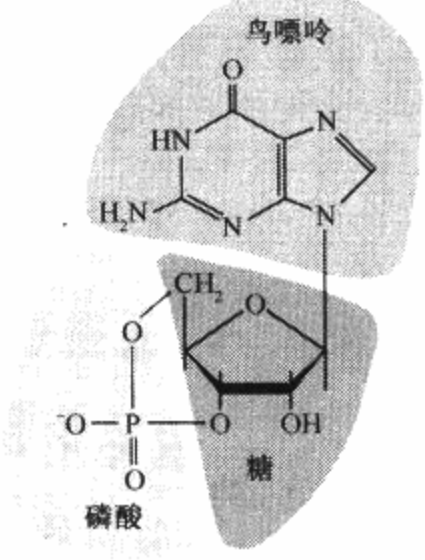


图 15-44　cGMP

脊椎动物视觉需要一个相似的精密的、高灵敏的信号检测过程。环核苷酸门控离子通道通常也参与，但关键的环核苷酸是 cGMP（图 15-44）而不是 cAMP。与 cAMP 一样，cGMP 不断地快速合成（由鸟苷酸环化酶催化）和快速降解（由 cGMP 磷酸二酯酶催化）控制细胞内的 cGMP 浓度。

在视觉转导反应（是脊椎动物中已知的最快的 G 蛋白介导的反应）中，光所导致的受体活化导致环核苷酸的降低，而不是升高。该途径在脊椎动物视网膜中的**视杆细胞光感受器（rod photoreceptor，rod）**研究得特别清楚。视杆细胞感受弱光下的非彩色视觉，而视锥细胞光感受器（cone）感受强光下的彩色视觉。视杆细胞光感受器是高度特化的细胞，具有锥体内节和锥体外节，细胞体和突触区，在突触区视锥细胞将化学信号传递到视网膜视觉细胞；该神经细胞再将信号沿着视觉途径传递（图 15-45）。光转导装置位于锥体外节，锥体外节含有一叠圆盘，每个圆盘是由一个闭合的膜囊形成的，许多光敏感的**视紫红质（rhodopsin）**分子嵌在膜中。围绕锥体外节的质膜含有 cGMP 门控 Na^+ 通道。这些通道在黑暗中通过与通道结合的 cGMP 保持打开。自相矛盾的是，光导致质膜的超极化（抑制突触信号传递）而不是去极化（促进突触信号传递）。超极化（膜电位的增加，讨论见第 11 章）的产生是因为圆盘膜中的视紫红质分子的光激活导致 cGMP 浓度的降低和周围质膜的特异 Na^+ 通道的关闭（图15-46）。

视紫红质是与 G 蛋白偶联受体的其他成员同源的 7 次跨膜分子，与它的同源物一样，视紫红质是通过三体 G 蛋白起作用的。然而，激活的胞外信号不是一个分子，而是一光子的光。每个视紫红质分子含有一个共价连接的生色团 11-顺视黄醛，11-顺视黄醛当吸收单个光

子时几乎同时异构化为全反式视黄醛。异构化改变了视黄醛的形状，促进蛋白质（视蛋白）发生构象变化。活化的视紫红质分子再改变 G 蛋白转导素（G_t），导致它的 α 亚基解离并激活 cGMP **磷酸二酯酶（cyclic GMP phosphodiesterase）**。磷酸二酯酶再水解 cGMP，所以胞质内 cGMP 水平下降。cGMP 浓度的下降导致与质膜上的 Na^+ 通道结合的 cGMP 量的减少，使得更多的这些 cGMP 高度敏感的通道关闭。通过这种方式，信号很快地通过圆盘膜到质膜，光信号被转换为电信号。

视杆细胞中许多机制作用以使得细胞在闪光之后能很快恢复到静息的黑暗状态，即对感知闪光的短暂的需要。一种视紫红质特异的激酶（RK）在多个丝氨酸上磷酸化活化的视紫红质的胞质尾，部分抑制视紫红质激活转导素的能力。一种称为视紫红质抑制蛋白的抑制蛋白然后结合磷酸化的视紫红质，更进一步地抑制视紫红质的活性。如果 RK 基因在小鼠或人中被突变失活，则视杆细胞的光反应将被大大地延长，视杆细胞最后死亡。

在视紫红质被关闭的同时，RGS 蛋白结合活化的转导素，促进转导素将与其结合的 GTP 水解为 GDP，GDP 将转导素恢复到无活性状态。此外，在对光应答的过程中关闭的 Na^+ 通道也对 Ca^{2+} 是可渗透的，所以当 Na^+ 通道关闭时，Ca^{2+} 的正常内流被抑制，导致胞质内 Ca^{2+} 的浓度降低。Ca^{2+} 浓度的减少促进鸟苷酸环化酶补充 cGMP，很快将其浓度恢复到光打开之前的浓度。在对 Ca^{2+} 浓度的下降应答的过程中，特异的 Ca^{2+} 敏感蛋白介导鸟苷酸环化酶的激活。与钙调蛋白相比，该蛋白质当 Ca^{2+} 结合它时是没活性的，当没有 Ca^{2+} 结合时是有活性的。因此，当一个光反应后 Ca^{2+} 浓度下降时它激活环化酶。

这些关闭机制不仅仅将一次闪光后的视杆细胞恢复到静息状态，它们也有助于使光感受器能适应，即当光感受器不断地接触光时降低反应。正如我们前面介绍的，适应使感受体细胞能充当敏感的检测器，检测在一个刺激基线水平很宽的范围内刺激强度的变化。

表 15-3 总结了本章我们介绍的各种三体 G 蛋白。

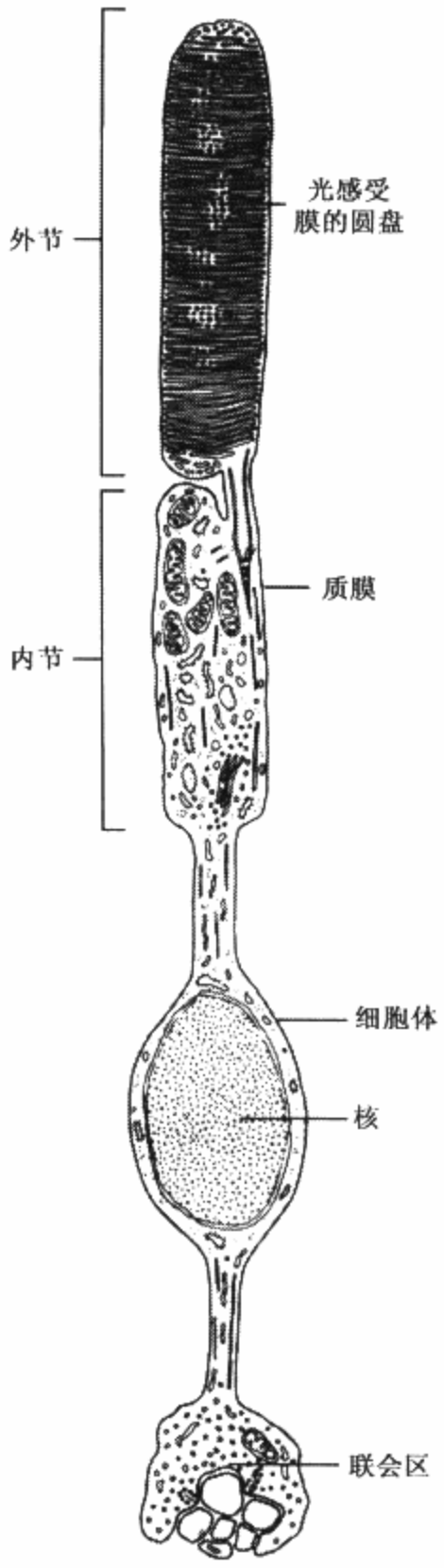


图 15-45　一个视杆感光细胞
锥体外节有大约 100 圆盘。圆盘膜不与质膜相连接

表 15-3　三大类家族的三体 G 蛋白

家族	某些家族成员	作用亚基	功能
Ⅰ	G_s	α	激活腺苷酸环化酶；激活 Ca^{2+} 通道
	G_{olf}	α	激活嗅觉感受神经元中的腺苷酸环化酶
Ⅱ	G_i	α	抑制腺苷酸环化酶
		βγ	激活 K^+ 通道

续表

家族	某些家族成员	作用亚基	功能
	G_o	βγ	激活 K^+ 通道；失活 Ca^{2+} 通道
		α 和 βγ	激活磷脂酶 C-β
	G_t（转导素）	α	激活脊椎动物视杆光感受细胞中的 cGMP 磷酸二脂酶
Ⅲ	G_q	α	激活磷脂酶 C-β

* 家族是由 α 亚基的氨基酸序列相关性确定的。只列出了所选的例子。在动物中已介绍的有大约 20 个 α 亚基和至少 4 个 β 亚基以及 7 个 γ 亚基。

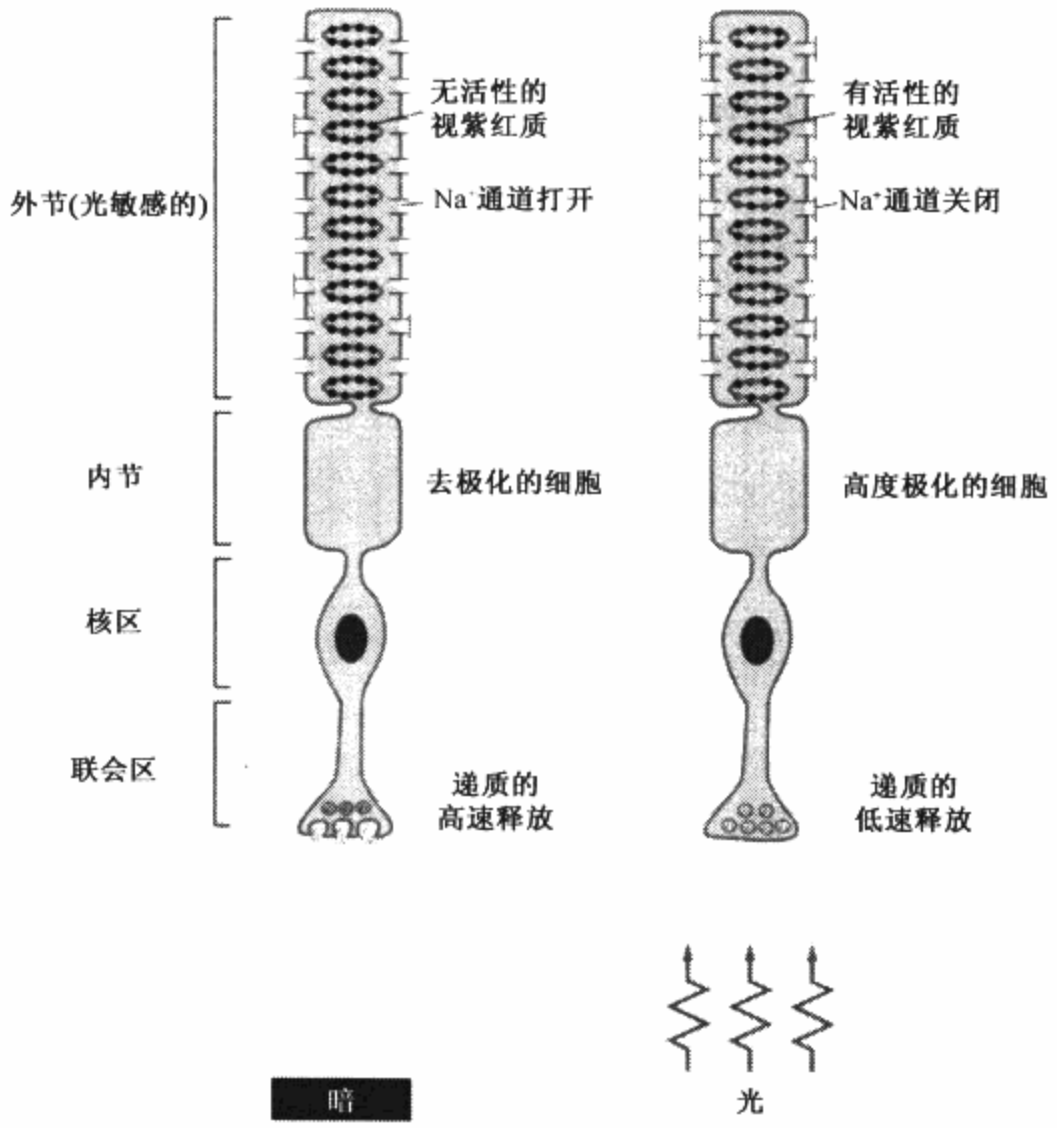


图 15-46　视杆感光细胞对光的应答

锥体外节圆盘上的视紫红质分子吸收光子。光子的吸收导致质膜上 Na^+ 通道的关闭，Na^+ 通道的关闭使膜去极化，并降低神经递质从突触区释放的速率。因为神经递质作用以抑制许多突触后视网膜神经元，照明可以使神经元免于抑制，因此，事实上照明激活神经元

胞外信号扩增通过使用小的胞质调质和酶促级联反应被极大地扩增

尽管分子细节上的差异，G 蛋白偶联受体所引发的信号传递系统具有某些相同的特征，并受相似的普遍原则的控制。G 蛋白偶联受体所引发的信号传递系统依赖于胞内传递蛋白质和小的胞内调质的传递链。与更直接的信号传递途径（以前介绍的核受体和第 11 章中介绍的

离子偶联受体所使用的）相比，这些传递链为扩增对胞外信号的反应提供许多机会。例如，在刚介绍的视觉转导级联反应中，单一活化的视紫红质分子以每秒大约1000个转导素分子的速度催化数百个转导素分子的活化。每个活化的转导素分子激活一分子cGMP磷酸二酯酶，每个cGMP磷酸持续约1s，并导致10个以上cGMP的水解（对每一个吸收的光子而言），所导致的cGMP浓度的下降再瞬时关闭质膜中数百个的Na^+通道（图15-47）。因此，视杆细胞能以一种时间和强度高度可重复的方式对单个光子做出应答。

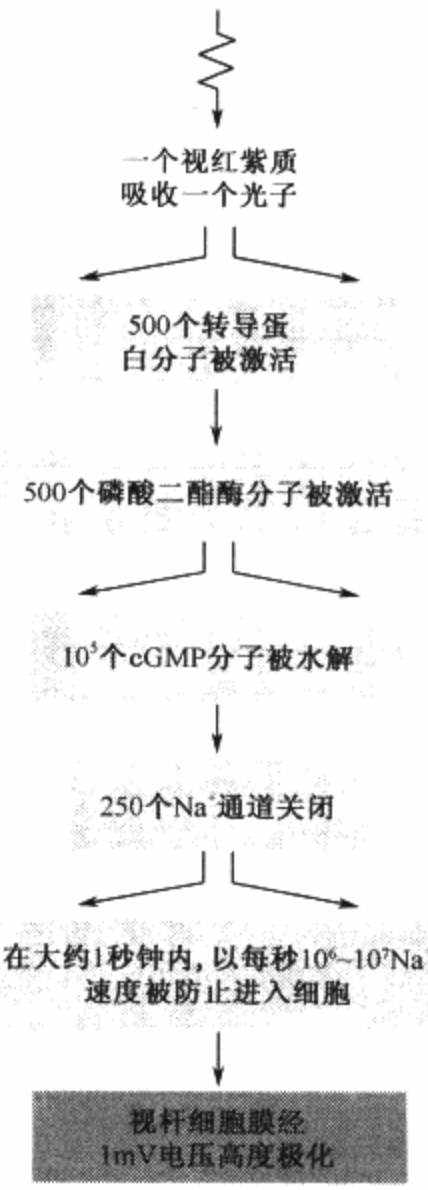


图15-47　脊椎动物视杆细胞中光诱导的催化级联反应中的扩增
分歧箭头表示扩增发生的步骤

同样地，当胞外信号分子与通过G_s间接激活腺苷酸环化酶的受体结合时，每个受体蛋白可以激活许多G_s蛋白，每个G_s蛋白能激活一个环化酶分子。每一个环化酶分子再催化大量ATP分子转变为cAMP分子。相似的扩增在肌醇磷脂途径中起作用。因此，胞外信号浓度的纳摩（10^{-9}mol/L）变化能诱导小的胞内调质（如cAMP或Ca^{2+}）浓度的微摩（10^{-6}mol/L）变化。因为这些调质充当异构效应物以激活特异的酶或离子通道，所以单个胞外信号分子能导致靶细胞内数千种蛋白质被改变。

任何这种刺激信号的扩增级联反应需要在级联反应的每一个步骤存在抗平衡机制，从而当刺激停止时将系统恢复到其静息状态。因此，一旦它们被活化后，细胞具有有效的机制以迅速地降解（和再合成）环核苷酸以及胞质Ca^{2+}的缓冲和去除，以及失活相应的酶和离子通道。这不仅对于关闭反应是必需的，对于界定反应开始的静息状态也是重要的。正如我们前面介绍的，通常只有失活机制迅速时对刺激的反应才迅速。信号传递链中的每个蛋白质可以是单独的调控靶标，包括受体，我们接下来介绍。

G蛋白偶联受体的脱敏依赖于受体的磷酸化

正如前面介绍的，当它们在延长的时间内接触高浓度的刺激性配体，靶细胞利用许多种机制以脱敏或适应（图15-25）。我们现在只介绍参与G蛋白偶联受体本身的改变的机制。

这些受体能通过三种普遍的方式脱敏：

1. 它们被改变以至于它们不再与G蛋白相互作用（受体失活）。
2. 它们暂时迁移到细胞内部（内化）以至于它们不能接触其受体（受体隔离）。
3. 它们被内化后在溶酶体中被降解（受体的下调）。

在每一种情况，脱敏过程依赖于受体的磷酸化，受体的磷酸化是由PKA、PKC或**G蛋白偶联受体激酶（G-protein-linked receptor kinase，GRK）**家族的某个成员催化的（GRK包括视紫红质特异的激酶，参与前面介绍的rod光受体的脱敏）。GRK磷酸化受体上的多个丝氨酸和苏氨酸，但它们只在受体已被配体结合激活后才磷酸化受体。与视紫红质一样，一旦受体以这种方式被磷酸化，受体以亲和力与**抑制蛋白（arrestin）**家族蛋白的某个成员结合

(图 15-48)。

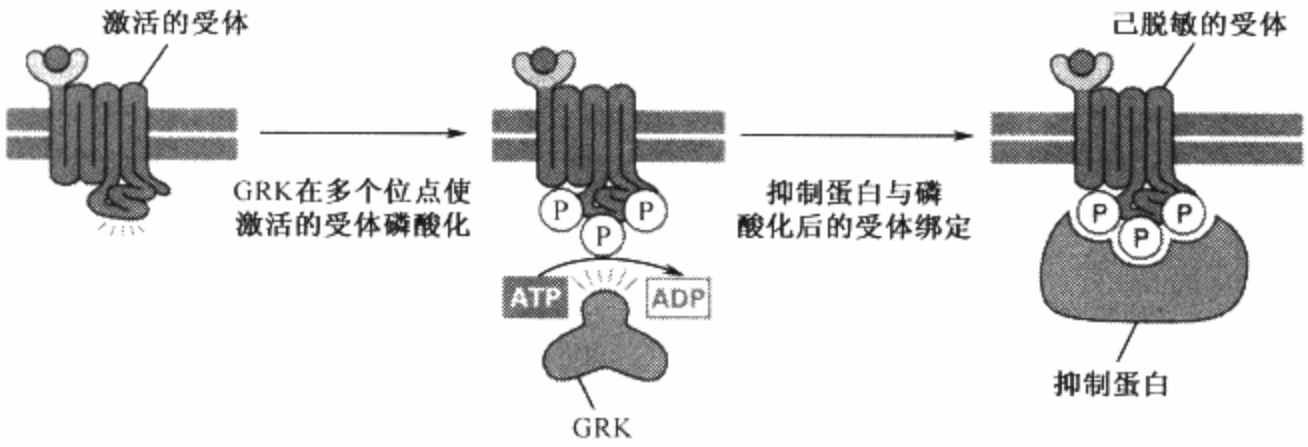


图 15-48　G 蛋白偶联受体激酶（GRK）和抑制蛋白在受体脱敏中的作用

抑制蛋白与磷酸化受体的结合阻止受体与其 G 蛋白的结合，并能指导胞吞。例如，缺失一种形式抑制蛋白的小鼠不能在对吗啡的应答中脱敏，证明了抑制蛋白对于脱敏的重要性

结合的抑制蛋白通过至少两种方式促进脱敏过程。第一，抑制蛋白通过阻止受体与 G 蛋白相互作用从而失活受体，这是受体未偶联的一个例子。第二，抑制蛋白能充当衔接蛋白以偶联受体和网格蛋白小窝（讨论见第 13 章），诱导受体介导的胞吞，导致受体的隔离或降解（下调），受体的隔离或降解取决于特异的受体和细胞类型，刺激配体的浓度和配体存在的持续时间。

小结

G 蛋白偶联受体能通过 G 蛋白间接激活或失活与质膜结合的酶或离子通道。当被活化的受体激活时，一个 G 蛋白分解成一个 α 亚基和一个 βγ 复合体，二者都能直接调控质膜上靶蛋白的活性。某些 G 蛋白偶联受体激活或失活腺苷酸环化酶，从而改变胞内介质 cAMP 的胞内浓度。其他 G 蛋白激活磷酸肌醇特异的磷脂酶 C（磷脂酶 C-β），磷脂酶 C-β 水解磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸酯[$PI(4,5)P_2$]以产生两个小的胞质调质。一个是肌醇 1,4,5-三磷酸（IP_3），IP_3 从 ER 中释放 Ca^{2+}，从而增加胞质内 Ca^{2+} 的浓度；另一个是二酰基甘油，保留在质膜上，并激活蛋白激酶 C（PKC）。cAMP 或 Ca^{2+} 浓度的升高主要分别通过激活蛋白激酶 A（PKA）和 Ca^{2+}/钙调蛋白依赖的蛋白激酶（CaM 激酶）影响细胞。

PKC、PKA 以及 CaM 激酶磷酸化特异靶蛋白的丝氨酸或苏氨酸，从而改变蛋白质的活性。每种类型的细胞具有特异的数套靶蛋白，这些蛋白质通过这些方式受到调控，使细胞对小的胞内调质做出具有自己特色的应答。G 蛋白偶联受体激活的胞内信号传递级联反应使这些反应得到极大扩增，以至于对于与受体结合的每分子胞外信号配体，许多靶蛋白被改变 。

当胞外信号配体被去除时，G 蛋白偶联受体介导的反应被快速地关闭。因此，G 蛋白 α 亚基通过将与其结合的 GTP 水解为 GDP 被诱导失活它本身，IP_3被一种磷酸酶（或被一种蛋白激酶磷酸化）快速去磷酸化，环核苷酸被磷酸二酯酶水解，Ca^{2+} 被泵出胞质，磷酸化蛋白被蛋白磷酸酶去磷酸化。活化的 G 蛋白偶联受体本身被 GRK 磷酸化，从而引发抑制蛋白的结合，从 G 蛋白解开受体并促进受体内吞。

细胞表面酶联受体介导的信号转导

酶联受体（enzyme-linked receptor）是第二大类的细胞表面受体。酶联受体最初是通过它们在对胞外信号蛋白的应答中的作用被发现的，这些胞外信号蛋白促进动物组织中细胞的生长、增殖、分化或存活。这些信号蛋白经常一起被称为生长因子，它们通常以非常低的浓度（10^{-9}～10^{-11} mol/L）充当局部调质。细胞对这些生长因子的反应通常缓慢（数小时），并且通常需要许多的胞内信号传递步骤，才能最终导致基因表达的改变。酶联受体也介导对细胞骨架的直接、快速的效应，控制细胞运动的方式以及改变细胞的形状。诱导这些快速反应的胞外信号通常并不是可溶的，而是附着在细胞爬行的物体表面。细胞增殖、分化、存活以及迁移方面的障碍是癌症发生的基本原因，酶联受体介导的信号传递的异常在癌症这类疾病中起主要作用。

与 G 蛋白偶联的受体一样，酶联受体是跨膜蛋白，配体结合结构域位于质膜的外面。酶联受体并不含有与 G 蛋白结合的胞质结构域，但酶联受体的胞质结构域要么具有内在的酶活性，要么直接与某种酶结合。G 蛋白偶联的受体具有 7 个跨膜片段，而酶联受体的每个亚基通常只有一个跨膜片段。

目前为止已发现 6 类酶联受体：

1. 受体酪氨酸激酶磷酸化一小类胞内信号蛋白上的特定酪氨酸。

2. 酪氨酸激酶关联受体与具有酪氨酸激酶的胞内蛋白结合。

3. 受体类似的酪氨酸磷酸酯酶去除来自特定的胞内信号蛋白的酪氨酸的磷酸基团（它们被称为“受体类似”，是因为假设的配体还未找到，所以它们的受体功能还未得到直接的证实）。

4. 受体丝氨酸/苏氨酸激酶磷酸化与其结合的潜在基因调控蛋白上的特定丝氨酸或苏氨酸。

5. 受体鸟苷酸环化酶直接催化胞质内的 cGMP 的产生。

6. 组氨酸激酶关联受体激活“二元”信号传递途径，该激酶磷酸化自身的组氨酸，直接将该磷酸基团转移到第二个胞内信号蛋白。

受体酪氨酸激酶是酶联受体中最多的一类，所以我们先讨论受体酪氨酸激酶，然后再依次讨论其他类的酶联受体。

激活的受体酪氨酸激酶自身磷酸化

通过**受体酪氨酸激酶（receptor tyrosine kinase）**作用的胞外信号蛋白由很多分泌的生长因子和激素组成。在本书其他部分讨论的显著例子包括表皮生长因子（EGF）、血小板衍生生长因子（PDGF）、成纤维细胞生长因子（FGF）、肝细胞生长因子（HGF）、胰岛素、胰岛素样生长因子-1（IGF-1）、血管内皮生长因子（VEGF）、巨噬细胞集落刺激因子（M-CSF）以及所有的神经营养因子，包括神经生长因子（NGF）。

许多细胞表面结合的信号蛋白也通过这些受体起作用。这些膜结合的配体中最大的一类是 ephrin，它们调控细胞黏附和排斥反应，而这些细胞黏附和排斥反应则指导动物发育过程中细胞和轴突沿着特定途径的迁移（讨论见第 21 章）。ephrin 的受体，称为 **Eph 受体（Eph receptor）**，也是数量最多的受体酪氨酸激酶。ephrin 和 Eph 受体是独特的，因为它们能同时充当配体和受体：某些 ephrin 与 Eph 受体结合后不仅激活 Eph 受体，而且激活自身将信号传

递到表达 ephrin 的细胞内部。通过这种方式，一个细胞上的 ephrin 蛋白与另一个细胞上的 Eph 受体之间的相互作用能导致双向的相互信号传递，从而改变该两个细胞的行为。例如，这种 ephrin 与 Eph 受体的双向信号传递对于避免正处于发育的脑的特定部分与相邻部分的细胞混合是必要的。

受体酪氨酸激酶可以分为 16 个结构亚家族，每个亚家族都有互补的蛋白质配体家族。图 15-49 列举了哺乳动物中的几种受体酪氨酸激酶亚家族，表 15-4 中列出了这些受体酪氨酸激酶亚家族的一些配体及其功能。某个信号蛋白与细胞外的配体结合结构域结合都激活胞内的酪氨酸激酶结构域。一旦激活后，激酶结构域将 ATP 上的磷酸基团转移到受体蛋白自身和胞内信号蛋白的特定的酪氨酸侧链上，胞内信号蛋白随后结合磷酸化的受体。

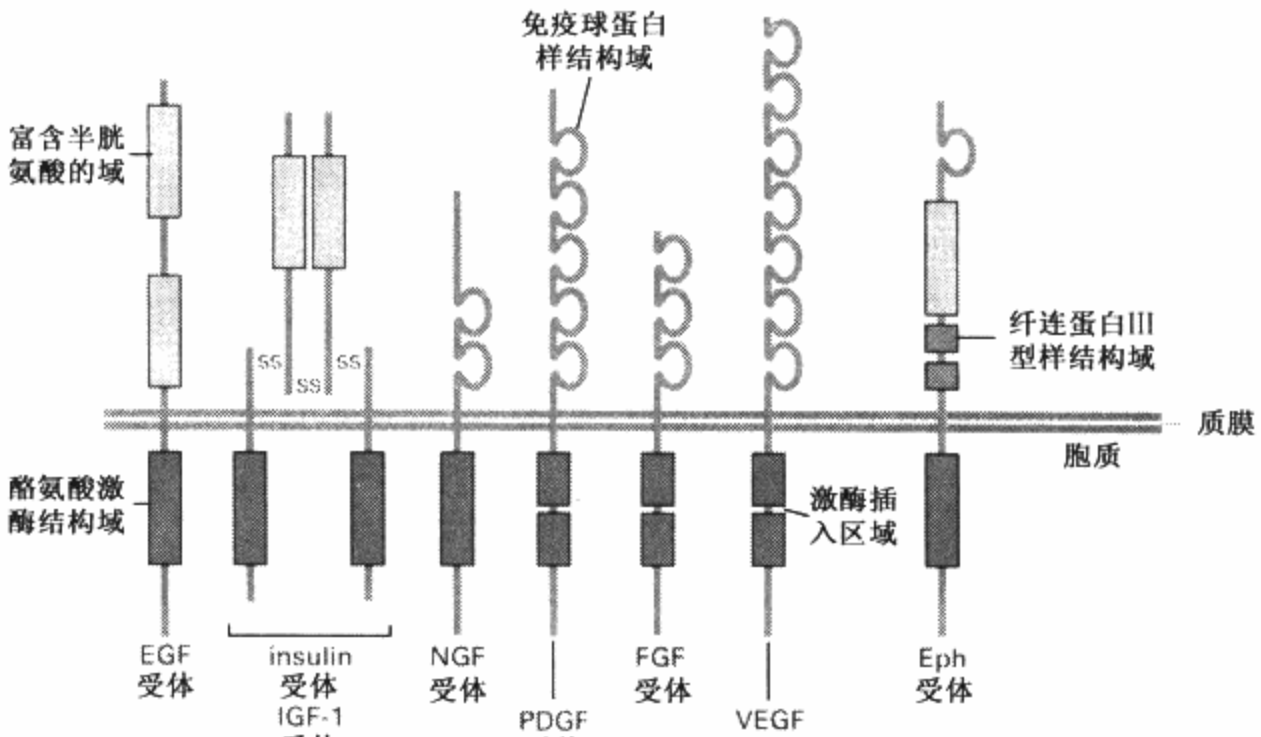


图 15-49　7 种亚家族的受体酪氨酸激酶

每个亚家族中只有一个成员被标出来。注意在某些亚家族中酪氨酸激酶结构域被“激酶插入区”破坏。大多数富含半胱氨酸的，免疫球蛋白样的以及纤维结合素类型Ⅲ样结构域的功能不知道。表 15-4 列有所示受体的某些配体和反应

表 15-4　通过受体酪氨酸激酶起作用的某些信号蛋白

信号配体	受体	某些反应
表皮生长因子（EGF）	EGF 受体	促进各种细胞类型的增殖
胰岛素	胰岛素受体	促进糖的利用和蛋白质合成
胰岛素样生长因子（IGF-1 和 IGF-2）	IGF 受体-1	促进细胞生长和存活
神经生长因子（NGF）	Trk A	促进某些神经元的存活和生长
血小板衍生生长因子（PDGF AA、BB、AB）	PDGF 受体（α 和 β）	促进各种细胞类型的存活、生长以及增生
巨噬细胞集落刺激因子（M-CSF）	M-CSF 受体	促进单核细胞 /巨噬细胞增殖和分化
成纤维细胞生长因子（FGF-1 和 FGF-24）	FGR 受体（FGF-R1-FGF-R4，另外还有每种的多个异形体）	促进各种细胞类型的增殖；抑制某些前体细胞的分化；发育中诱发的信号
血管内皮生长因子（VEGF）	VEGF 受体	促进血管发生
ephrin（A 和 B 型）	Eph 受体（A 和 B 型）	促进血管发生；指导细胞和轴突迁移

那么胞外配体的结合是如何激活质膜外的激酶结构域呢？对于 G 蛋白偶联的受体来说，配体的结合被认为改变了几个跨膜 α 螺旋的相对方向，从而改变了胞质环之间的相对位置。然而，很难想像构象变化如何通过单一的跨膜 α 螺旋跨过脂双层传播。然而，对于酶联受体来说，两个或多个受体链在膜上结合，形成二聚体或更高的寡聚体。在某种情况下，配体结合诱导寡聚化。在其他情况下，寡聚化发生在配体结合前，配体结合导致受体链在膜上的方向的改变。无论哪种情况下，受体胞质尾部诱导的重排起始胞内的信号传递过程。对于受体酪氨酸激酶来说，重排导致受体的相邻激酶结构域在多个酪氨酸上彼此相互磷酸化，该过程称为自磷酸化。

为了激活受体酪氨酸激酶，配体通常必须同时结合两条相邻的受体链。例如，PDGF 是一个二聚体，交叉连接两个受体［图 15-50（A）］。甚至某些单体配体，如 EGF，同时结合并直接交叉连接两个受体。与之相反，也是单体的 FGF 首先通过结合靶细胞表面或胞外基质的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖形成多聚体。通过这种方式，FGF 能交叉连接相邻的受体［图 15-50（B）］。在接触依赖信号传递中，配体在信号细胞的质膜上形成簇，从而能交叉连接靶细胞上的受体［图 15-50（C）］；因此，膜结合的 ephrin 激活 Eph 受体，而可溶的 ephrin 只有聚集后才能激活 Eph 受体。

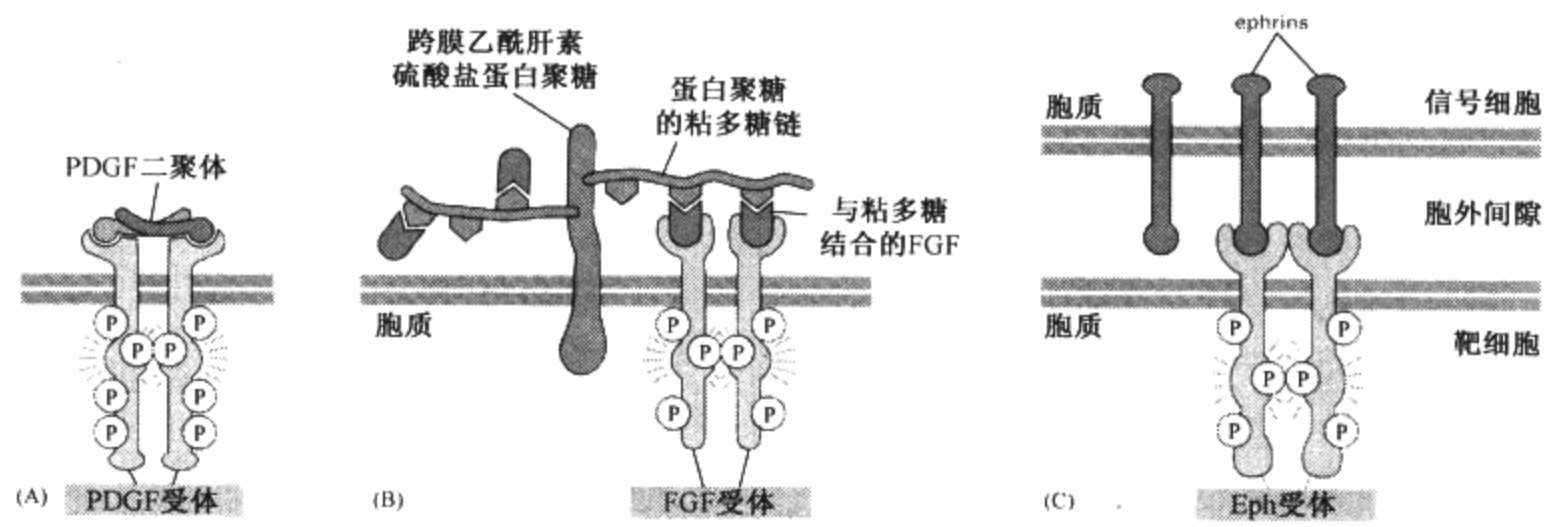


图 15-50　信号蛋白交连受体链的三种方式

当受体链被交连时，相邻受体的激酶结构域交叉磷酸化彼此，激活受体的激酶活性并为胞内蛋白提供停泊位点。（A）血小板衍生生长因子（PDGF）是一个共价连接的二聚体，具有两个受体结合位点，所以它能直接交连相邻的受体，从而起始胞内信号传递过程。PDGF 二聚体是由 A 和 B 链以不同组合的方式组成的，它们能激活两种类型 PDGF 受体链（α 和 β）的不同组合，这两个受体链具有某些不同的信号传递性质。（B）某些单体配体，如成纤维细胞生长因子（FGF）成簇地结合蛋白聚糖，使配体交连其受体。蛋白聚糖可以在细胞外基质或细胞表面上（如图所示）。有 20 多种类型的 FGF 和多于 4 种类型的 FGF 受体。（C）膜结合的信号蛋白（如 ephrin）能交联它们的受体即使它们是单体，因为它们在信号细胞的质膜簇集。某些 ephrin（B 类型）是跨膜蛋白（如图所示），而其他（A 类型）是通过糖基磷脂酰肌醇（GPI）锚与膜连接的（图 12-56）。对于大多数来说，A 类型的 ephrin 激活 A 类型的 Eph 受体，B 类型的 ephrin 激活 B 类型的 Eph 受体

因为受体的活化需要寡聚化，所以比较容易失活某个特定的受体酪氨酸激酶，从而决定该受体酪氨酸激酶对于细胞反应的重要性。为此，可以用编码一种突变形式的受体的 DNA 转染细胞，该突变受体可以正常地寡聚化，但具有一个失活的激酶结构域。当与正常受体以高水平共表达时，突变受体以 dominant-negative 方式起作用，通过与正常受体形成失活的二聚体，从而使正常受体丧失功能（图 15-51）。

受体酪氨酸激酶的胞质尾的自磷酸化通过两种方式促进激活过程。首先，激酶结构域内

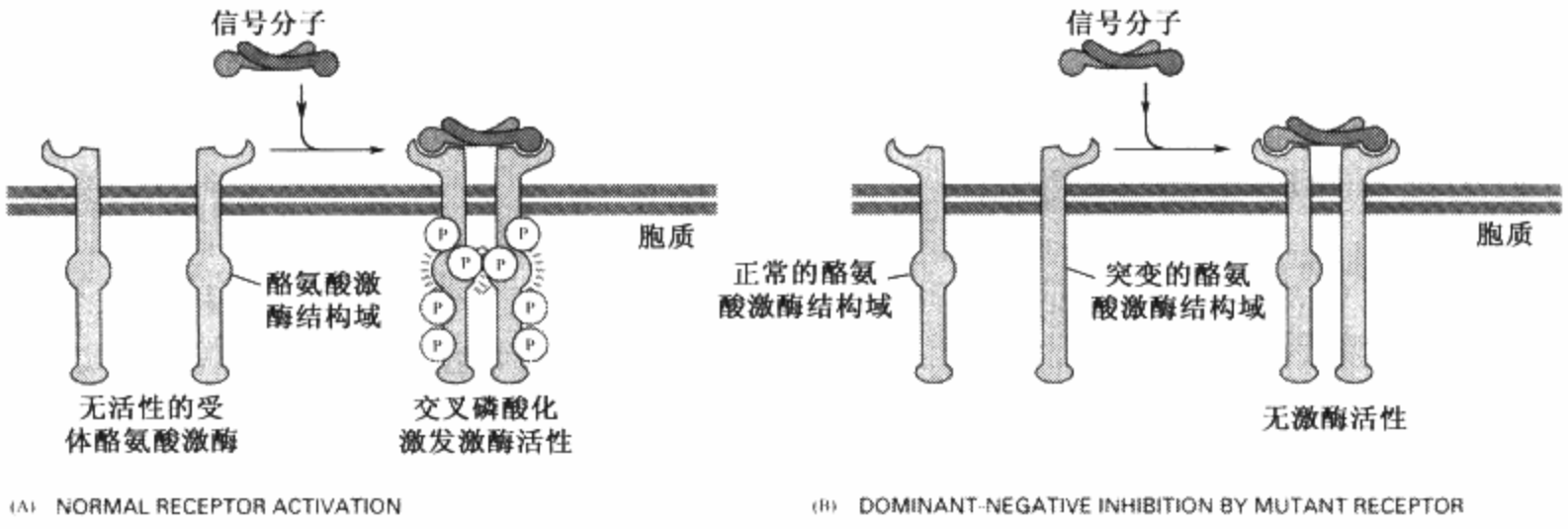


图 15-51　通过过量的突变受体导致正常受体酪氨酸激酶介导的信号传递的抑制

（A）在这个例子中，配体结合导致正常受体二聚化。该两个激酶结构域相互交叉磷酸化，增强激酶结构域的活性，激酶结构域通过磷酸化受体的其他位点再进一步激活受体二聚化。（B）具有失活的激酶结构域的突变受体能正常二聚化，但它不能交叉磷酸化一个正常的二聚体受体。因为这个原因，突变受体如果过量存在的话，将阻止正常受体的信号传递，该过程称为显性负相抑制。细胞生物学家经常利用这一策略以抑制某种细胞内特异类型的受体酪氨酸激酶，从而确定它的正常功能

酪氨酸的磷酸化增强了该酶的激酶活性；第二，激酶结构域外酪氨酸的磷酸化为靶细胞的许多胞内信号蛋白的结合创造了高亲和力的停泊位点。每种类型的信号蛋白之所以结合激活的受体上不同的磷酸化位点，是因为信号蛋白含有一个特定的磷酸酪氨酸结合结构域，该结构域除了识别磷酸酪氨酸外还识别肽链的周围特征。一旦与激活的激酶结合，信号蛋白自身的酪氨酸被磷酸化，从而被激活；或者与激活的激酶结合单独就足以激活停泊的信号蛋白。总之，自磷酸化充当一种引发大的胞内信号传递复合体的瞬时装配的开关，该信号传递复合体再将信号沿多条途径传递到细胞内的多个目的地（图 15-52）。因为不同的受体酪氨酸激酶结合不同组合的信号蛋白，所以受体酪氨酸激酶激活不同的细胞反应。

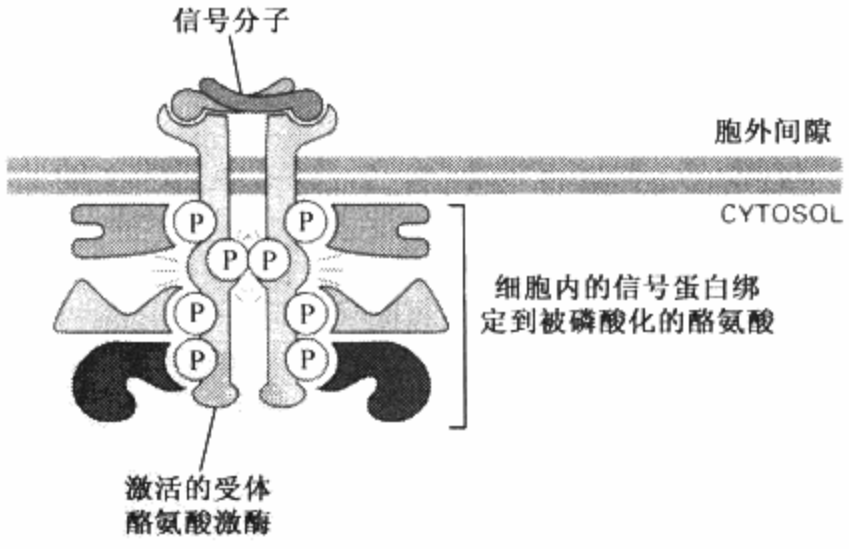


图 15-52　胞内信号蛋白在活化的受体酪氨酸激酶上的停泊

活化的受体和与其结合的信号蛋白形成一个信号传递复合体，该复合体再将信号沿着多条信号传递途径传播

胰岛素和 IGF-1 的受体以一种略微不同的方式起作用。它们起始就是四聚体（图 15-49），配体的结合被认为诱导了跨膜受体链的重排，从而两个激酶结构域聚集到一起。配体结合所产生的大多数磷酸酪氨酸的停泊位点并不在受体本身上，而是在一种称为胰岛素受体底物-1

(IRS-1) 的特化停泊蛋白上。激活的受体首先自磷酸化其激酶结构域，该结构域再在多个酪氨酸上磷酸化 IRS-1，从而创造了许多的停泊位点，比受体单独所能提供的停泊位点要多得多。某些其他的受体酪氨酸激酶以相似的方式用其他的停泊蛋白以扩大信号复合体的大小。

酸磷化的酪氨基酸充当具有 SH2 结构域的蛋白质的停泊位点

胞内信号蛋白能结合活化的受体酪氨酸激酶（或特异的停泊蛋白，如 IRS-1）上的磷酸酪氨酸，从而将信号传递下去。某些停泊蛋白是酶，如**磷酸酯酶 C-γ（phospholipase C-γ，PLC-γ）**。磷酸酯酶 C-γ 作用方式与磷酸酯酶 C-β 相同——与 G 蛋白偶联受体结合并激活前面介绍的肌醇磷脂信号传递途径。通过肌醇磷脂信号传递途径，受体酪氨酸激酶能增加胞质的 Ca^{2+} 水平。这些受体通常更多地依赖于蛋白质-蛋白质相互作用的传递链。例如，停泊在这些受体上的另一个酶是胞质内的酪氨酸激酶 Src，Src 磷酸化其他信号蛋白上的酪氨酸，还有一个酶是磷脂酰肌醇（-3）激酶（PI3 激酶），PI3 激酶在质膜上产生特异的脂分子，吸引其他的信号蛋白，这一点我们在下面介绍。

尽管与活化的受体酪氨酸激酶和停泊蛋白上的磷酸酪氨酸结合的胞内信号蛋白具有不同的结构和功能，但它们通常都具有高度保守的磷酸酪氨酸结合结构域。这些结构域或者是**SH2 结构域（SH2 domain）**（代表 Src 同源区域，因为它首先在 Src 蛋白中被发现），或者是较为少见的 PTB 结构域（代表磷酸酪氨酸结合）。通过识别特异的磷酸酪氨酸，这些小结构域充当使含有它们的蛋白质能结合活化的受体酪氨酸激酶以及许多其他酪氨酸被瞬时磷酸化的胞内信号蛋白（图 15-53）。许多信号蛋白也含有其他蛋白质模件，使它们能特异地与其他蛋白质相互作用，这可作为信号传递过程的一部分。这些蛋白质模件包括 SH3 结构域（之所以这样命名，是因为它首次在 Src 中被发现）。SH3 结构域结合胞内蛋白质中的富含脯氨酸基序（图 15-20）。

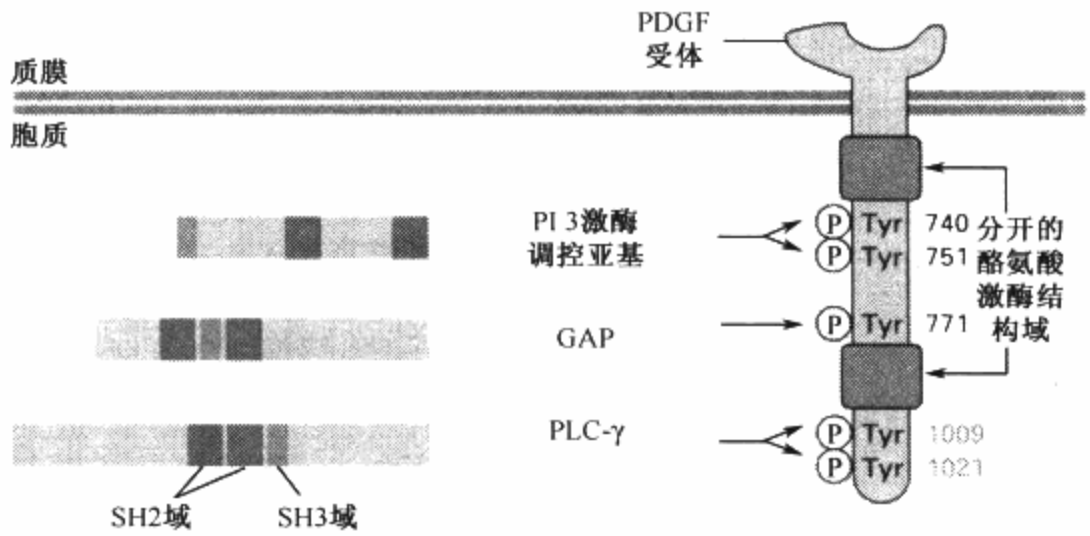
并不是所有的通过 SH2 结构域与活化的受体酪氨酸激酶结合的蛋白质都有助于信号的传递。某些蛋白质降低信号传递过程，提供反馈。c-Cbl 蛋白便是一个例子，它能停泊在某些活化的受体上，并催化受体与泛素的连接。这种泛素化促进受体的内化和降解，这一过程称为受体的下调（图 15-25）。

某些信号蛋白几乎完全是由 SH 和 SH3 结构域组成的，充当衔接蛋白，将酪氨酸磷酸化的蛋白质与其他不具有 SH2 结构域的其他蛋白质偶联起来（图 15-20）。这种衔接蛋白有助于将活化的受体与重要的下游信号蛋白 Ras 偶联起来。我们接下来介绍，Ras 充当信号转导蛋白和分支信号蛋白，改变信号的本质并将信号沿多条下游途径传递下去，这些下游途径包括一条主要的促进细胞增殖或分化的信号传递途径。激活该途径从而不合适地促进细胞分裂的突变是许多类型癌症的致病因子。

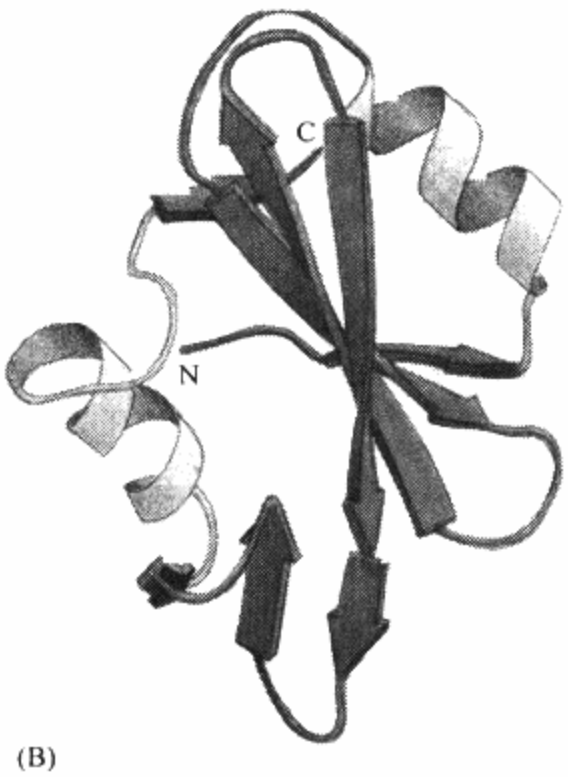
鸟苷酸交换因子激活 Ras

Ras 蛋白（Ras protein）属单亚基 GTP 酶的大 Ras 超家族。该家族也包含两个其他的亚家族。Rho 家族和 Rab 家族。Rho 家族参与将来自细胞表面受体的信号传递到细胞骨架和其他部位（讨论见第 16 章）；Rab 家族参与调控胞内转运膜泡的运输（讨论见第 13 章）。与几乎所有的单亚基 GTP 酶一样，Ras 蛋白锚定到膜上，在这种情况下锚定到 Ras 行使功能的质膜的胞质面。有多种 Ras 蛋白，不同的 Ras 蛋白在不同细胞类型中起作用。因为这些 Ras 蛋白作用方式似乎都相同，我们简单地称这些 Ras 蛋白为 Ras。

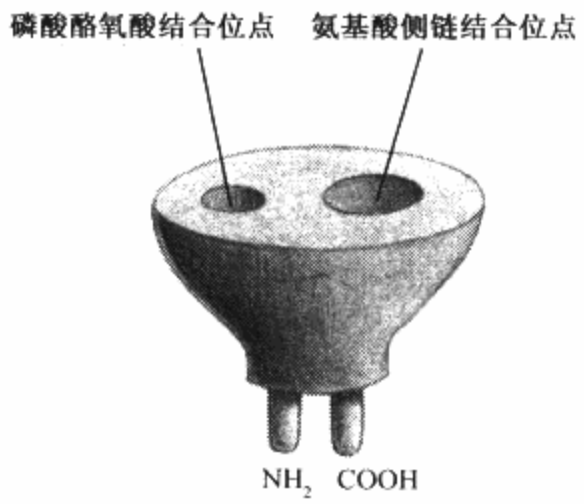
Ras 有助于将来自细胞表面的信号传递到细胞的其他部位。例如，当受体酪氨酸激酶将



(A)



(B)



(C)

图 15-53　含有 SH2 的胞内信号蛋白与活化的 PDGF 受体的结合

（A）PDGF 受体的图标出酪氨酸自磷酸化位点中的 5 个位点，3 个位于激酶插入区，2 个位于 C 端尾，如图所示 3 个信号蛋白与这些自磷酸化位点结合。右侧的编号表明酪氨酸在多肽链中的位置。这些结合位点的鉴定是通过利用重组 DNA 技术突变受体上的特异酪氨酸。例如，酪氨酸 1009 和 1021 的突变阻止 PLC-γ 的结合和活化，从而受体的活化不再激活肌醇磷脂信号传递途径。SH2（红色）和 SH3（蓝色）结构域在这 3 个信号蛋白中的位置如图所示。（该受体上另外的自磷酸化位点未标出，包括充当胞质酪氨酸激酶 Src 以及衔接蛋白 Grb2 and Shc 的结合位点的自磷酸化位点也未标出，在后面介绍 Grb2 和 Shc。）（B）X 射线衍射晶体分析法确定的 SH2 结构域的三维结构。磷酸酪氨酸的结合袋在右侧以黄色标出，结合特异氨基酸侧链（在这个例子中是异亮氨酸）的袋在左侧以黄色标出（图 3-40）。（C）SH2 结构域是紧凑的“插头”模件，它几乎可以被插到蛋白质的任何地方而不破坏蛋白质的折叠或功能（图 3-19）。因为每种结构域具有不同的磷酸酪氨酸和识别某个特异氨基酸侧链的位点，不同的 SH2 结构域识别不同的侧翼氨基酸序列背景中的磷酸酪氨酸［（B），摘自 G. Waksman et al.，*Cell* 72：1～20，1993. © Elsevier. 的数据］

信号传递到细胞核经常需要 Ras，信号进入细胞核后通过改变基因表达从而促进细胞增殖或分化。如果 Ras 功能被微注射抗 Ras 的中和抗体的或一种 dominant-negative 点突变形式的 Ras 抑制，那么通常被活化的受体酪氨酸激酶所诱导的细胞增殖或分化反应则不发生。相反地，如果超活性突变的 Ras 蛋白被导入某些细胞系，Ras 对细胞增殖或分化的效应有时与配体和细胞表面受体结合所诱导的反应相同。事实上，Ras 首次以突变 *ras* 基因的超活性产物

被发现的。该超活性产物促进癌症的发生；我们现在知道大约 30%的人类肿瘤具有超活性的 *ras* 突变。

与其他 GTP 结合蛋白一样，Ras 充当一种开关，在两种不同的构象状态循环，即 GTP 结合时具有活性，GDP 结合时无活性（图 15-17）。两类信号蛋白通过影响活性状态和非活性状态之间的转变来调节 Ras 活性。**鸟苷酸交换因子（guanine nucleotide exchange factor，GEF）**通过促进 GDP 的解离和随后从胞质摄取 GTP 来促进结合核苷酸的交换，从而激活 Ras。**GTP 酶激活蛋白（GTPase-activating protein，GAP）**增加 Ras 水解结合 GTP 的速率，从而失活 Ras（图 15-54）。Ras 的超活性突变形式抵抗 GAP 介导的 GTP 酶的激活，并被永久地锁定在 GTP 结合的活性状态，这是超活性突变的 Ras 促进癌症发生的原因。

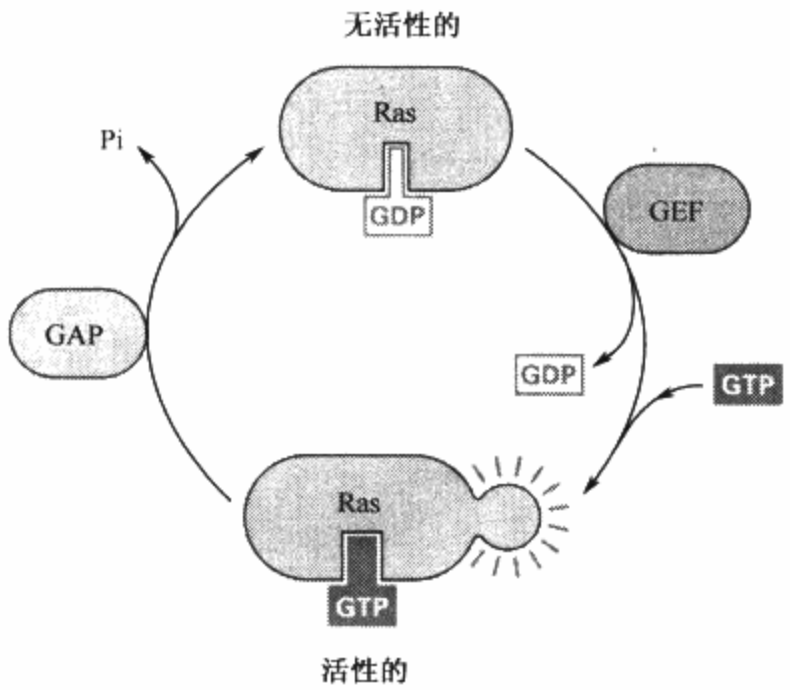


图 15-54　Ras 活性的调控

GTP 酶活化蛋白（GAP）通过促进 Ras 水解与其结合的 GTP 来失活 Ras；失活的 Ras 保持与 GDP 的紧密结合。鸟嘌呤核苷酸交换因子（GEF）通过促进 Ras 释放其 GDP 来激活 Ras；胞质内 GTP 的浓度是 GDP 的 10 倍，一旦 GDP 被释放后，Ras 很快结合 GTP。在哺乳细胞中已鉴定几种调控 Ras 的 GAP（Ras GAP），包括 $p120^{GAP}$ 和神经纤维瘤蛋白（之所以这样命名，是因为它的编码基因在常见的人遗传疾病神经纤维瘤病中被突变，该疾病与神经瘤相关）。在未激活的细胞中 Ras GAP 维持大多数 Ras 蛋白（约 95%）以无活性状态存在

事实上，受体酪氨酸激酶能通过激活 GEF，或通过抑制 GAP 激活 Ras。即使某些 GAP 直接（通过其 SH2 结构域）结合活化的受体酪氨酸激酶（图 15-53），而 GEF 只间接结合，正是受体与 GEF 的间接偶联激活 Ras。事实上，Ras 特异 GEF 的功能缺失具有与 Ras 功能丧失相似的效应。其他 Ras 类似蛋白的活化，包括 Rho 家族中的 Ras 类似蛋白，也被认为是通过 GEF 的活化发生的。

果蝇和蠕虫的遗传研究与哺乳动物细胞的生化研究表明衔接蛋白连接受体酪氨酸激酶和 Ras。例如，哺乳动物细胞内的 Grb-2 蛋白（Grb-2 protein）通过其 SH2 结构域与活化的受体酪氨酸激酶上的特异磷酸酪氨酸结合，并通过其 SH3 结构域与一种称为 Sos 的 GEF 上的富含脯氨酸基序结合。然而，某些活化的受体酪氨酸激酶并不展示 Grb-2 停泊所必需的特异磷酸酪氨酸；这些受体招募另一个称为 Shc 的衔接蛋白，Shc 与活化的受体和 Grb-2 结合，从而通过一种更为间接的方式连接受体和 Sos。受体-Grb2-Sos（或受体-Shc-Grb2-Sos）的装配使 Sos 能通过促进 Ras 将其结合的 GDP 换成 GTP 激活相邻的 Ras 分子（图 15-55）。Grb-2 缺陷的小鼠在胚胎发生的早期死亡的发现表明了 Grb-2 的重要性。非常相似的成套蛋白质被

认为在所有动物中行使功能以激活 Ras。

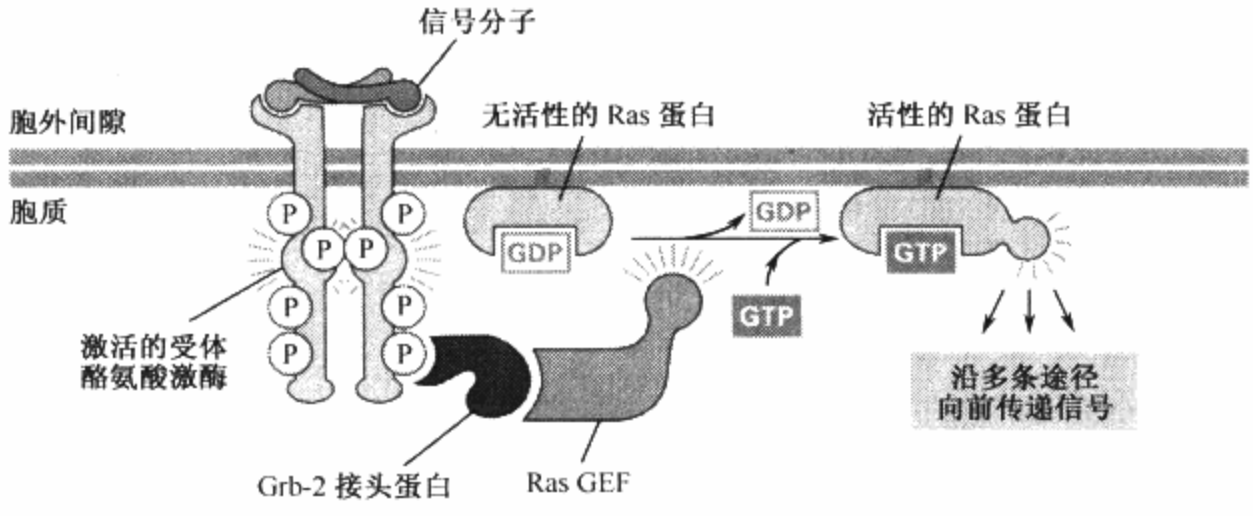


图 15-55　Ras 的激活通过活化的受体酪氨酸激酶

为了简单化，大多数与活化的受体结合的信号蛋白被省略了。Grb-2 衔接蛋白与受体上的特异磷酸酪氨酸和 Ras 鸟嘌呤核苷酸交换因子（GEF）结合，激活 Ras 将与它结合 GDP 交换为 GTP。活化的 Ras 再激活几个下游信号传递途径，其中的一个如图 15-56 所示

来自受体酪氨酸激酶的这条途径并不是激活 Ras 的唯一方式。其他 Ras GEF 的激活不依赖于 Sos 。例如，主要存在于脑内的 GEF 被 Ca^{2+} 和二酰基甘油激活，连接 G 蛋白偶联受体和 Ras 激活。

一旦被激活后，Ras 依次激活不同的其他信号蛋白从而沿着几条途径传递信号。其中一条 Ras 激活的信号传递途径是丝氨酸/苏氨酸磷酸化级联反应，该级联反应在从酵母到人的真核细胞中高度保守。我们下面将介绍该级联反应的一个关键组分——一种称为 MAP 激酶的新型蛋白激酶。

Ras 激活一条包括 MAP 激酶的下游丝氨酸/苏氨酸磷酸化级联反应

活化的受体酪氨酸激酶引发的酪氨酸磷酸化和 Ras 的激活是短暂的。酪氨酸特异的蛋白磷酸酶（后面介绍）迅速地去磷酸化，GAP 诱导活化的 Ras 通过将结合的 GTP 水解为 GDP 失活自己。为了促进细胞增殖或分化，这些短暂的信号传递事件，必须转变为更持久的信号传递事件，这些信号传递事件能维持信号，并将信号传递到细胞核内以改变基因表达模式。活化的 Ras 引发这种转变是通过起始一系列的下游丝氨酸/苏氨酸的磷酸化，丝氨酸/苏氨酸的磷酸化比酪氨酸磷酸化更为持久。许多丝氨酸/苏氨酸参与该磷酸化级联反应，但其中的三个构成该级联反应的核心模件。该三个激酶中最后一个被称为**细胞分裂素活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAP 激酶）**。

MAP 激酶的一个独特特征是它的完全活化需要苏氨酸和酪氨酸的磷酸化，苏氨酸和酪氨酸在 MAP 激酶上只隔一个氨基酸。催化苏氨酸和酪氨酸磷酸化的蛋白激酶称为 MAP 激酶激酶，在哺乳动物 Ras 信号传递途径中称为 MEK。酪氨酸和苏氨酸磷酸化需要确保 MAP 激酶处于非活性状态，除非 MAP 激酶被 MAP 激酶激酶特异地激活。MAP 激酶激酶的唯一已知底物是 MAP 激酶。MAP 激酶激酶本身被磷酸化激活。三元模件中的第一个激酶 MAP 激酶激酶激酶催化 MAP 激酶激酶的磷酸化，在哺乳动物 Ras 信号转导途径中被称为 Raf。Raf 激酶被活化的 Ras 激活。

一旦活化后，MAP 激酶通过磷酸化胞内不同的蛋白质将信号向下游传递，包括基因调控蛋白和其他蛋白激酶（图 15-56）。例如，MAP 激酶进入细胞核并磷酸化基因调控复合体中

的一个或多个组分。这激活一套立即早期基因的转录，之所以称为立即早期基因，是因为这些基因在细胞被胞外信号刺激的数分钟打开，即使蛋白质合成被药物阻断。这些基因中的某些基因编码其他的基因调控蛋白，这些基因调控蛋白打开其他基因，这一过程需要蛋白质合成和更多时间。通过这种方式，Ras-MAP 激酶信号传递途径将信号从细胞表面传递到细胞核，并以显著的方式改变基因表达模式。该途径激活的基因中有细胞增殖必需的基因，如编码 G_1 周期蛋白的基因（讨论见第 17 章）。

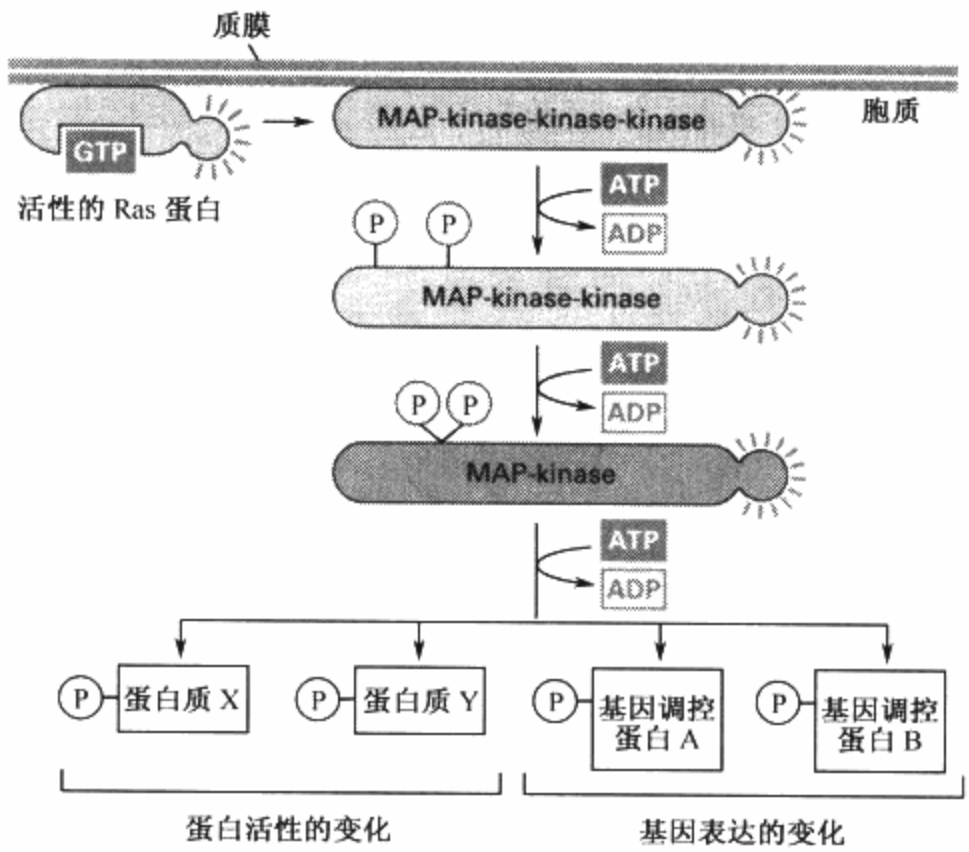


图 15-56　Ras 激活的 MAP 激酶丝氨酸/苏氨酸磷酸化途径

需要结构和功能相关的蛋白质的多条这种途径在所有真核生物中起作用，每种途径偶联胞外刺激和许多种细胞输出。Ras 激活的途径以称为 Raf 的 MAP-激酶-激酶-激酶开始，Raf 激活 MAP-激酶-激酶 Mek，Mek 再激活称为 Erk 的 MAP 激酶，Erk 再激活磷酸化许多种下游蛋白，包括其他的激酶以及细胞核内的基因调控蛋白

在应答胞外信号过程中 MAP 激酶通常只瞬时被活化，MAP 激酶保持活性的持续时间能极大地影响细胞应答的性质。例如，当 EGF 激活中性前体细胞系上的受体时，MAP 激酶活性在 5min 达到高峰，很快下降，细胞随后继续分裂。相比之下，当 NGF 激活相同细胞上的受体时，MAP 激酶在许多小时内保持高活性，细胞停止增殖并分化成神经元。

MAP 激酶被去磷酸化失活，从酪氨酸或苏氨酸上磷酸的特异去除足以失活 MAP 激酶。在某些情况下，胞外信号的刺激诱导双特异性磷酸酶的表达。该磷酸酶去除两个磷酸，并失活激酶，提供了一种负反馈的形式。在其他情况下，胞外信号的刺激通过已存在的磷酸酶更快速地失活 MAP 激酶。

三元 MAP 激酶信号传递模件在所有动物细胞以及酵母中起作用，不同的信号传递模件在相同细胞中介导不同的细胞反应。例如，在芽殖酵母中，一个该信号传递模件通过 G 蛋白的 $\beta\gamma$ 复合体介导交配信息素反应，另一个介导对饥饿的反应，还有另一个介导对渗透休克的反应。这些三元 MAP 激酶模件中的某些利用一种或多种相同的激酶，而设法激活不同的效应蛋白，因此激活不同的反应。细胞是如何避免不同的平行信号传递途径之间的交流，从而确保每种反应是特异的呢？一种方式是利用支架蛋白，支架蛋白以特异的模件结合所有的或某些激酶以形成复合体，如图 15-57 所示，这在前面介绍过［图 15-19（A）］。

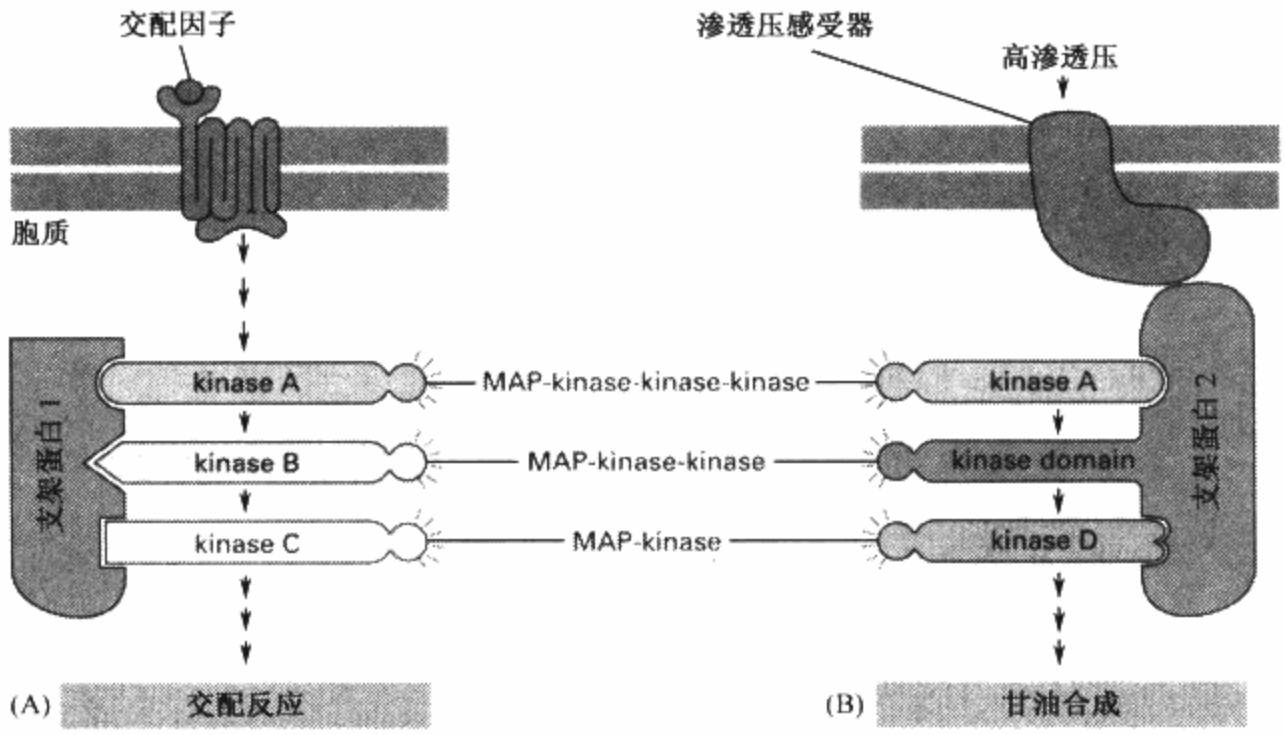


图 15-57　芽殖酵母中支架蛋白介导的 MAP 激酶途径的组织

芽殖酵母至少有 6 个三元 MAP 激酶模件，这些模件参与许多种生物过程，包括如图所示的两个反应，交配反应和对高渗透压的反应。(A) 当相反交配型的酵母分泌的交配因子结合 G 蛋白偶联受体时交配反应被引发。这激活 G 蛋白，G 蛋白的 βγ 复合体间接激活 MAP-激酶-激酶-激酶（激酶 A），再向前传递反应。一旦活化后，MAP 激酶（蛋白激酶 C）磷酸化并从而激活几种介导交配反应的蛋白质，在交配反应中，酵母细胞停止分裂并准备融合。该模件中的三种激酶与支架蛋白 1 结合。(B) 在第二种反应中，接触高渗环境的酵母细胞被诱导合成甘油以增加其内部渗透压。该反应是由一种跨膜的感受渗透压的受体蛋白和一个与第二种支架蛋白结合的不同的 MAP 激酶模件介导（注意支架蛋白 2 的激酶结构域提供了该模件的 MAP-激酶-激酶活性）。尽管两者途径使用相同的 MAP 激酶-激酶-激酶（激酶 A，绿色），但它们之间没有交流，因为每个模件中的激酶紧密地与不同的支架蛋白结合，渗透压感受器与特异激酶所活化的相同支架蛋白结合

哺乳动物细胞也利用这种策略避免 MAP 激酶信号传递途径之间的交流。哺乳动物细胞中至少有 5 条平行的 MAP 激酶模件能发挥作用。这些模件至少由 12 个 MAP 激酶，7 个 MAP-激酶-激酶和 7 个 MAP-激酶-激酶-激酶组成的。这些模件中的几个被不同种的细胞胁迫激活，如 UV 辐射、热激、渗透胁迫以及炎症性细胞因子的刺激。在这些胁迫激活的模件中至少某些模件的该三种激酶是通过与一个共同的支架蛋白结合聚集一起，正如在酵母中。支架策略提供了准确性，在应答信号分子浓度的小变化过程中有助于引起 MAP 激酶活性的大变化，以及避免交流。然而，支架策略降低了信号的放大和信号扩散到细胞的不同部位的机会，这需要至少某些组分可以扩散（图 15-16）。

当 Ras 被受体酪氨酸激酶激活时，Ras 通常不只是仅仅激活 MAP 激酶信号传递途径。Ras 通常也帮助激活 PI3 激酶，PI3 激酶将信号传递给细胞以促进细胞存活和生长。

PI3 激酶产生质膜上的肌醇磷脂的停泊位点

胞外信号蛋白刺激细胞的分裂，部分是通过激活刚介绍的 Ras-MAK 激酶途径。然而，如果细胞在不生长的情况下不断分裂的话，这些细胞将变得越来越来小并最终消失。因此，为了增殖，大多数细胞需要被刺激以增大（生长）和分裂。在某种情况下，一种信号蛋白起两种作用；在其他情况下，一种信号蛋白（分裂素）主要刺激细胞分裂。导致细胞生长的主要胞内信号传递途径中的一条途径需要**磷脂酰肌醇（-3）激酶（phosphatidylinositol 3-kinase,**

PⅠ 3-kinase）的参与。该激酶主要磷酸化肌醇磷脂，而不是蛋白质；该激酶能被受体酪氨酸激酶激活，也能被许多其他类型的细胞表面受体激活，包括某些 G 蛋白偶联受体。

磷脂酰肌醇（PI）是一类独特的膜脂，因为它能在多个位点上进行可逆的磷酸化，从而产生多种不同的肌醇磷脂。当被激活时，磷脂酰肌醇（-3）激酶在肌醇环的位置 3 上催化肌醇磷脂的磷酸化，从而产生称为 PI（3，4）P_2或PI（3，4，5）P_3的脂（图 15-58）。然后 PI（3，4）P_2和 PI（3，4，5）P_3充当胞内信号蛋白的停泊位点，这些停泊位点将这些信号蛋白聚集到一起形成信号传递复合体，信号复合体再将来自质膜胞质面的信号传递到细胞内。

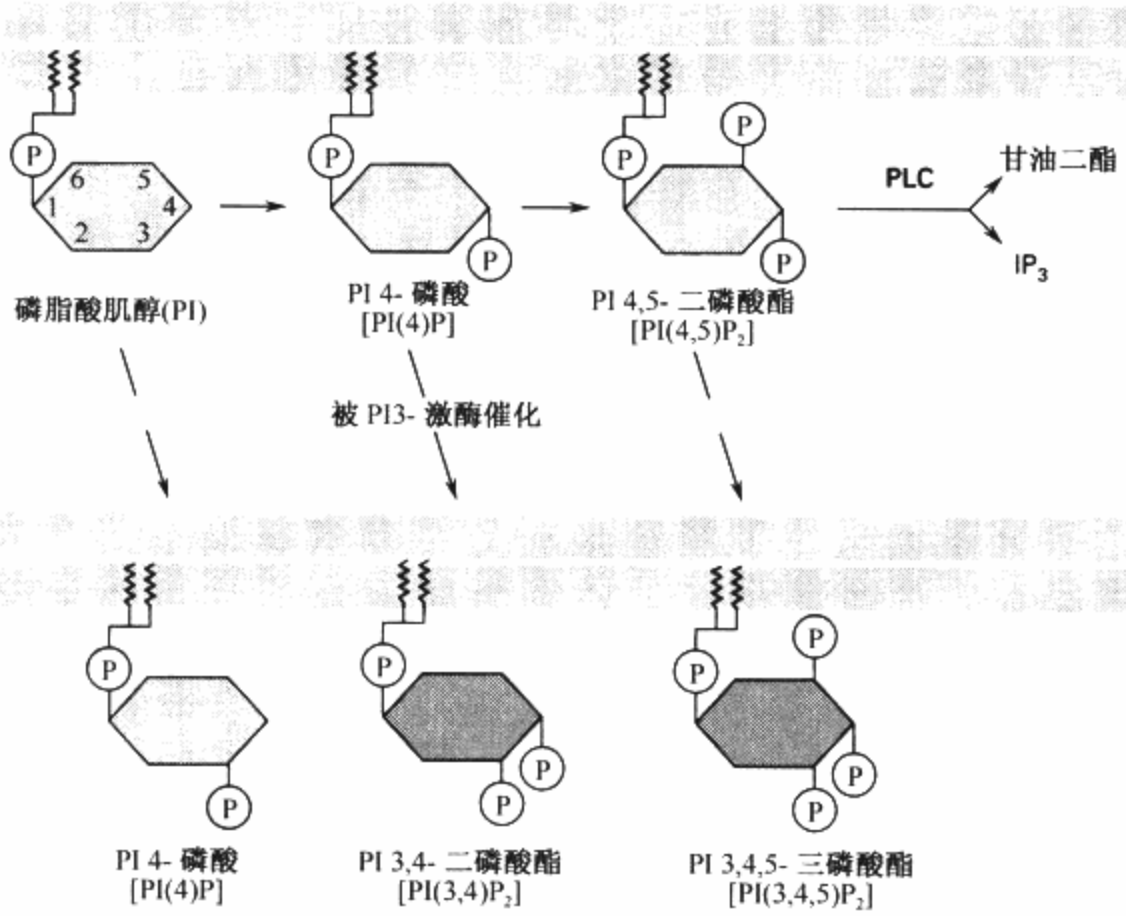


图 15-58　PI3 激酶肌醇磷脂停泊位点的产生

PI3 激酶磷酸化肌醇环的碳原子 3 以产生肌醇磷脂（如图的下面所示）；两个脂分子（红色所示）能充当具有 PH 结构域的信号蛋白的停泊位点。绿色箭头所示的磷酸化是由其他的肌醇磷脂激酶催化的。前面介绍过，磷脂酶 C（PLC-β 或 PLC-γ）能切割 PI（4，5）P_2从而产生两个小信号分子二酰基甘油和肌醇 1,4,5-三磷酸（IP_3）。

区分肌醇磷脂的这种用途与前面刚介绍的用途是重要的。前面我们介绍过 PI（3，4）P_2如何被PLC-β（在 G 蛋白偶联受体情况下）或 PLC-γ（在受体酪氨酸激酶情况下）切割以产生可溶的 IP_3和膜结合的二酰基甘油。IP_3从 ER 中释放出来，而二酯酰甘油激活 PKC（图 15-58和图 15-35）。相比之下，PI（3，4）P_2和 PI（3，4，5）P_3并不被 PLC 切割。它们保持在质膜中直至被特异的肌醇磷脂磷酸酶去磷酸化，该磷酸酶除去肌醇环的位置 3 处的磷酸。失活一种该磷酸酶（称为 PTEN）从而延长 PI3 激酶的信号传递的突变能促进癌症的发生，这些突变存在于许多人类癌症患者身上。这些突变导致细胞寿命的延长，表明 PI3 激酶介导的信号传递促进细胞的存活以及细胞生长。

有各种类型的 PI3 激酶。被受体酪氨酸激酶激活的 PI3 激酶是由一个催化亚基和一个调节亚基组成的。调节亚基是一种衔接蛋白，它通过其 SH2 结构域与活化的受体酪氨酸激酶上的磷酸酪氨酸结合（图 15-53）。另一种 PI3 激酶具有一种不同的调节亚基，当 G 蛋白偶联受体被其胞外配体激活时，三聚体 G 蛋白的 βγ 复合体激活该 PI3 激酶的调节亚基。两种情况的

催化亚基相似，催化亚基也具有活化的 Ras 的结合位点，该结合位点使 Ras 能够直接激活 PI3 激酶。胞质信号蛋白主要通过其 **Pleckstrin 同源（PH）结构域（pleckstrin homology domain）** 与活化的 PI3 激酶产生的 PI（3，4）P_2和 PI（3，4，5）P_3结合，该结构域首先在血小板蛋白 pleckstrin 中发现。PH 结构域存在于大约 200 个人类蛋白质中，包括 Sos（前面介绍过的激活 Ras 的 GEF），以及某些非典型的 PKC 中，这些 PKC 的激活不依赖于 Ca^{2+}。人和小鼠的某些遗传性免疫缺陷疾病明显地说明了 PH 结构域的重要性，在这些疾病中一种称为 BTK 的胞质酪氨酸激酶的 PH 结构域被突变失活。正常情况下，当 B 淋巴细胞（B 细胞）上的抗原受体激活 PI3 激酶时，产生的肌醇脂的停泊位点招募 BTK 和 PLC-γ 到质膜的胞质面。在胞质面，这两个蛋白质相互作用：BTK 磷酸化并激活 PLC-γ，PLC-γ 再切割 PI（4，5）P_2产生 IP_3和二酯酰甘油，从而将信号传递下去（图 15-59）。因为突变的 BTK 不能将信号传递给 B 细胞以增殖或存活，导致抗体生产的严重缺乏。

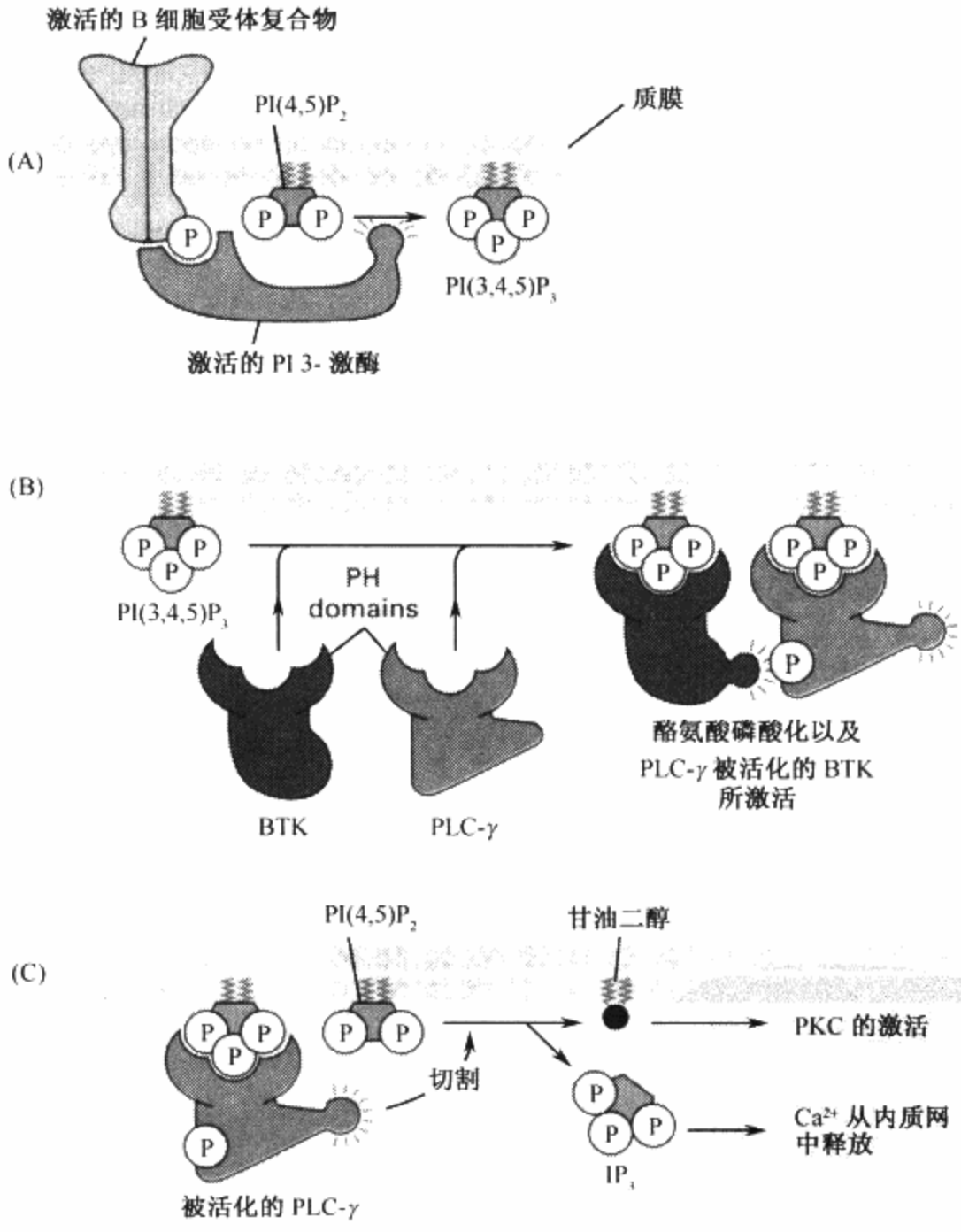


图 15-59　在 B 细胞激活过程中含有 PH 结构域的信号蛋白招募到质膜

（A）PI3 激酶结合活化的 B 细胞受体复合体上的磷酸酪氨酸从而被活化磷酸化肌醇磷脂 PI4，5-二磷酸[PI(4,5)P_2]，产生 PI 1,4,5-三磷酸[PI(3,4,5)P_3]。（B）PI 1,4,5-三磷酸充当两个含有 PH 结构域的信号蛋白的停泊位点，然后这两个蛋白质相互作用。这导致胞质酪氨酸激酶 BTK 磷酸化从而激活膜上的 PLC-γ。（C）活化的 PLC-γ 再切割 PI（4，5）P_2产生甘油三酯和 IP_3，甘油三酯和 IP_3 将信号向前传递

PI3 激酶/蛋白激酶 B 信号传递途径能促进细胞存活和生长

PI3 激酶将信号传递给细胞以一种通过间接激活**蛋白激酶 B（PKB）（protein kinase B，**也称为 **Akt**）的方式存活。蛋白激酶 B 含有一个 PH 结构域，当 PI3 激酶在质膜处被胞外存活信号激活时，该 PH 结构域指导蛋白激酶 B 到质膜。与质膜的胞质面处的PI（3，4，5）P_3 结合后，PKB 改变其构象，从而 PKB 能被一种过程激活，该过程需要一种磷脂酰肌醇依赖的蛋白激酶（称为 PDK1）的磷酸化，PDK1 以相同的方式被招募到质膜。一旦活化后，PKB 返回胞质并磷酸化许多种靶蛋白。其中的一个称为 BAD 的靶蛋白是一种正常促进细胞程序性死亡或细胞凋亡（前面已提过，在第 17 章中详细介绍）的蛋白质。通过磷酸化 BAD、PKB 使 BAD 失活，从而促进细胞存活（图 15-60）。PKB 也通过抑制其他细胞死亡激活物促进细胞存活，在某些情况下是通过抑制编码细胞死亡物的基因的转录。

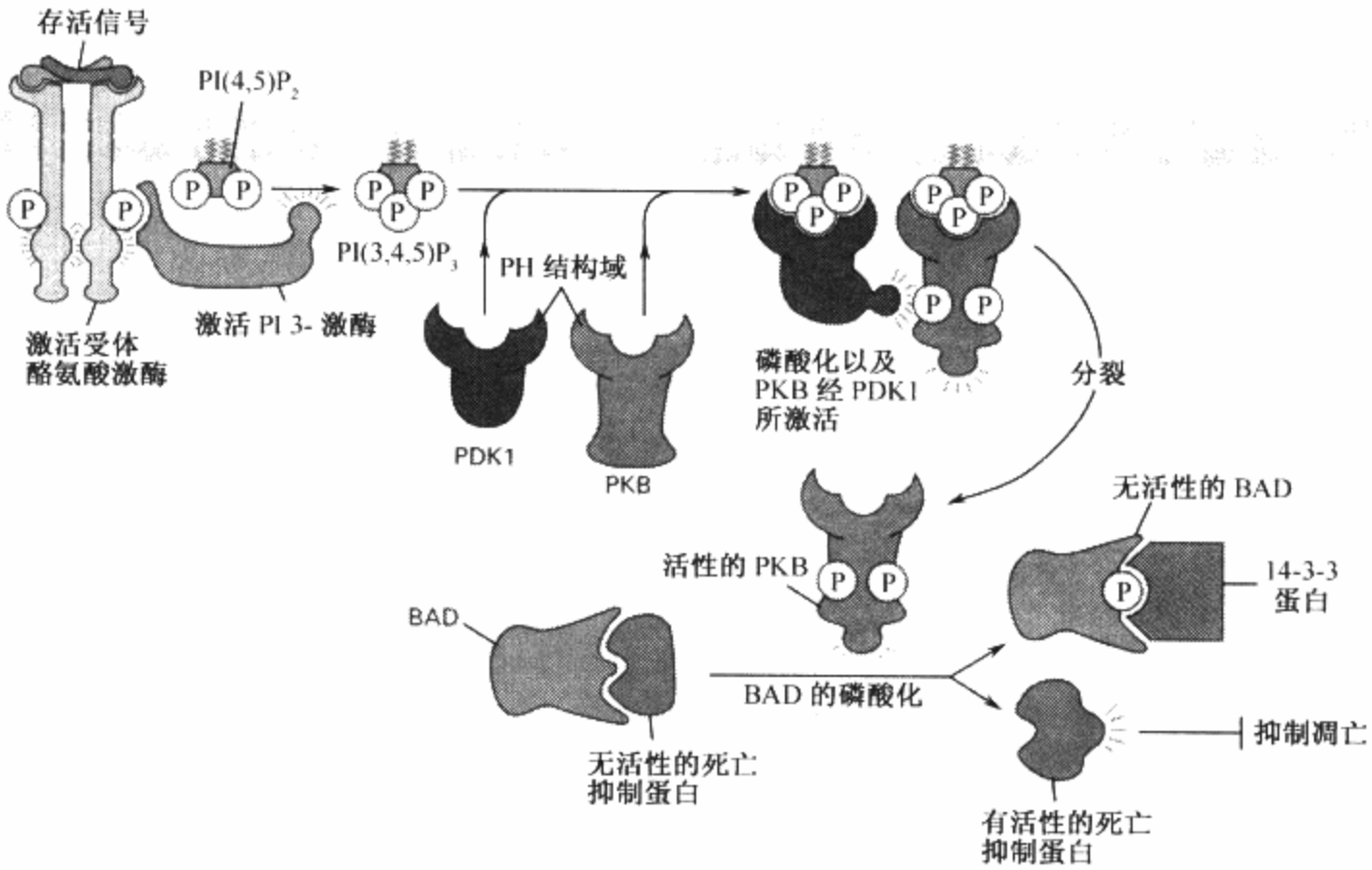


图 15-60　PI3 激酶介导的信号传递促进细胞存活的一种方式

胞外存活信号激活受体酪氨酸激酶，受体酪氨酸激酶招募并激活 PI3 激酶。PI3 激酶产生 PI（3，4，5）P_3和 PI（3，4）P_2（未标出），两者都充当停泊位点以停泊两个含有 PH 结构域的丝氨酸/苏氨酸激酶——蛋白激酶 B（PKB）和磷酸肌醇依赖的激酶 PDK1。PKB 与肌醇脂的结合改变其构象，从而蛋白被 PDK1 磷酸化和激活。活化的 PKB 与质膜解离并磷酸化 BAD 蛋白，当未磷酸化时，BAD 使一个或更多的死亡抑制蛋白处于无活性状态。一旦活化后，BAD 释放抑制蛋白，抑制蛋白能阻止程序性细胞死亡（细胞凋亡），从而促进细胞存活。如图所示，一旦磷酸化，BAD 结合称为 14-3-3 的广泛存在的胞质蛋白，14-3-3 使 BAD 无活性。人细胞有大约 20 种 14-3-3 蛋白，所有的 14-3-3 蛋白结合特异蛋白上的含有磷酸丝氨酸的基序。其他信号传递途径的激活也能导致磷酸化 BAD 和促进细胞存活（未标出）

PI3 激酶将信号传递给细胞以生长（通常增加细胞的新陈代谢）的途径是复杂的，现在还缺乏了解。生长因子促进细胞生长的一种方式是通过增加蛋白质合成的速率，而蛋白质合成速率的增加是通过增强核糖体将某些 mRNA 翻译成蛋白质的效率的结果。一种称为 **S6 激酶（S6 kinase）**的蛋白激酶是从 PI3 激酶到核糖体的多条信号传递途径中的一条途径的一部分。S6 激酶磷酸化从而激活核糖体的 S6 亚基，S6 的活化有助于增强一亚组 mRNA 的翻译，这些 mRNA 编码核糖体蛋白和翻译机器的其他组分。S6 激酶的激活本身是一个复杂的过程，

该过程依赖于 PDK1 和 PDK1 上许多位点的磷酸化。在应答 PI3 激酶活化时，PDK1 可以磷酸化这些位点中的一个。

图 15-61 总结了我们目前为止介绍过的 5 条平行的胞内信号传递途径。其中一条是由 G 蛋白偶联受体引发的，两条是由受体酪氨酸激酶引发的，以及两条是由这两种受体一起引发的。

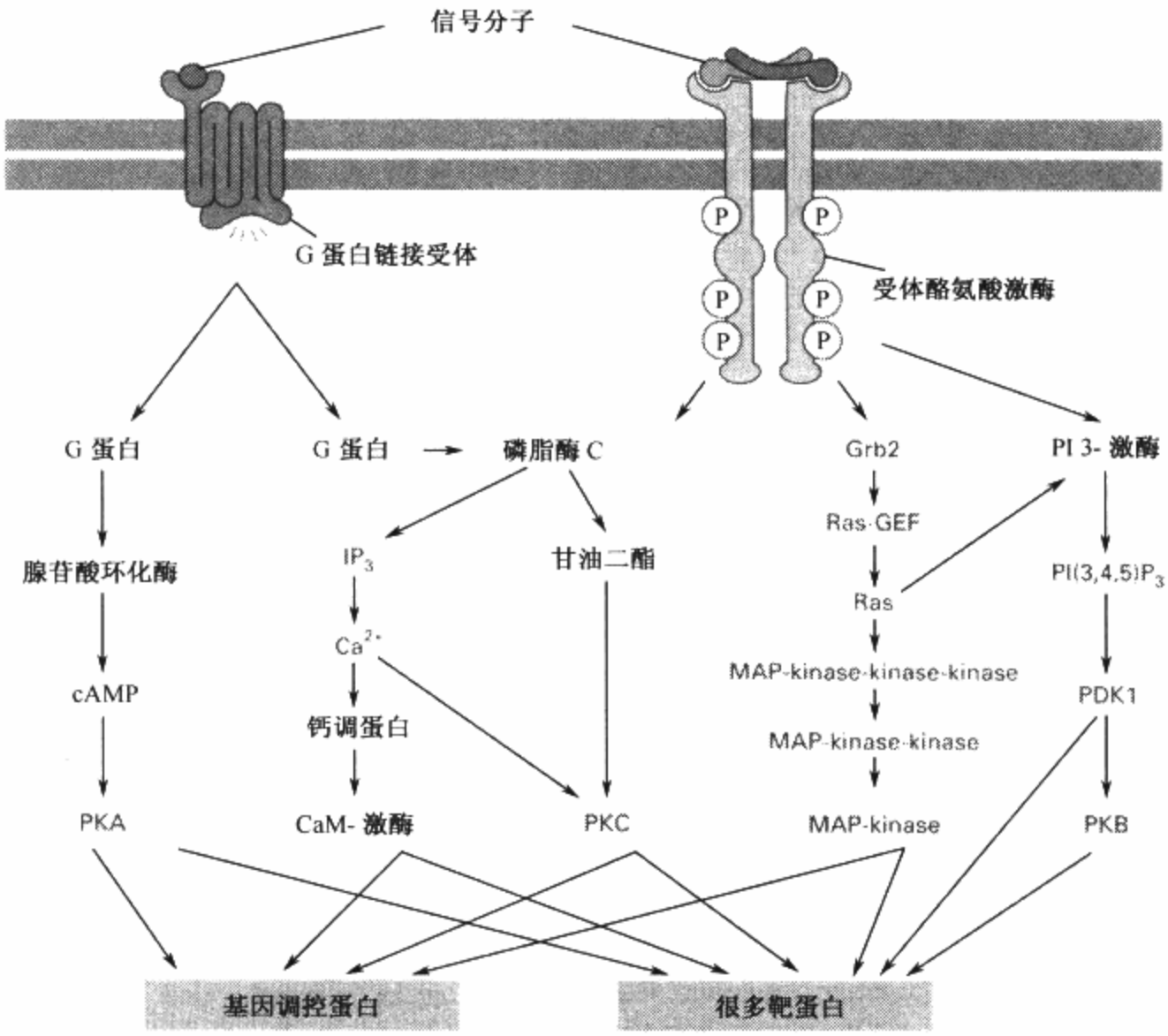


图 15-61　G 蛋白偶联受体，受体酪氨酸激酶或两者激活的 5 条平行的胞内信号传递途径

在该图式的例子中，每条途径末端的 5 个激酶（黄色）磷酸化靶蛋白（红色），某些靶蛋白被一个以上的激酶磷酸化。被两种类型的受体激活的特异磷脂酶 C 是不同的：G 蛋白偶联受体激活 PLC-β，而受体酪氨酸激酶激活 PLC-γ（未标出）

酪氨酸激酶关联受体的活性依赖于胞质酪氨酸激酶

许多细胞表面受体的活性依赖于酪氨酸的磷酸化，但缺乏一个明显的酪氨酸激酶结构域。这些受体通过**胞质酪氨酸激酶（cytoplasmic tyrosine kinase）**起作用。当受体结合配体时，胞质酪氨酸激酶与受体结合并磷酸化各种靶蛋白，经常包括受体本身。因此，该受体与受体酪氨酸激酶的作用方式相同，除了其激酶结构域是由另一个单独的基因编码，非共价地与受体多肽链结合。与受体酪氨酸激酶一样，这些受体必须寡聚化后才能行使功能。

许多这些受体依赖于最大的哺乳动物胞质酪氨酸激酶家族的成员，即 Src 家族（Src family）蛋白激酶（图 3-68）。Src 家族包括以下成员：Src、Yes、Fgr、Fyn、Lck、Lyn、Hck 和 Blk。这些蛋白激酶都含有 SH2 和 SH3 结构域，位于质膜的胞质面，与跨膜受体蛋白相互

作用和共价连接的脂链的共同作用将蛋白激酶固定在质膜的胞质面。不同的家族成员与不同的受体结合，并磷酸化重叠但不同的靶蛋白。例如，Lyn 、Fyn 和 Lck 与淋巴细胞中不同的受体结合。在每种情况下，当胞外配体与合适的受体蛋白结合时激酶被激活。Src 本身和几种其他的家族成员也能与活化的受体酪氨酸激酶结合；在这些情况下，受体和胞质激酶相互促进彼此的催化活性，从而加强和延长信号。

另一种胞质酪氨酸激酶与整合蛋白结合。整合蛋白是细胞用以结合胞外基质的主要受体家族（讨论见第 19 章）。基质组分与整合蛋白的结合能激活影响细胞行为的胞内信号传递途径。当整合蛋白在基质接触位点簇集时，整合蛋白帮助引发称为成簇黏附的基质连接的装配。被招募到这些连接的许多蛋白质中有称为**成簇黏附激酶（FAK）**（**focal adhesion kinase**）的胞质酪氨酸激酶，该激酶在其他骨架蛋白的帮助下与其中的一个整合蛋白亚基的胞质尾结合。簇集的 FAK 分子相互磷酸化彼此，创造 Src 激酶能结合的磷酸酪氨酸停泊位点。Src 和 FAK 接着磷酸化彼此和组装在该连接中的其他蛋白质，包括受体酪氨酸激酶所使用的许多信号蛋白。通过这种方式，这两个激酶将信号传递给细胞，使细胞附着在合适的基质上。细胞于是能在此处存活、生长、分裂、迁移等。FAK 缺陷的小鼠在发育早期死亡。它们的细胞在培养皿中并不是正常的迁移。

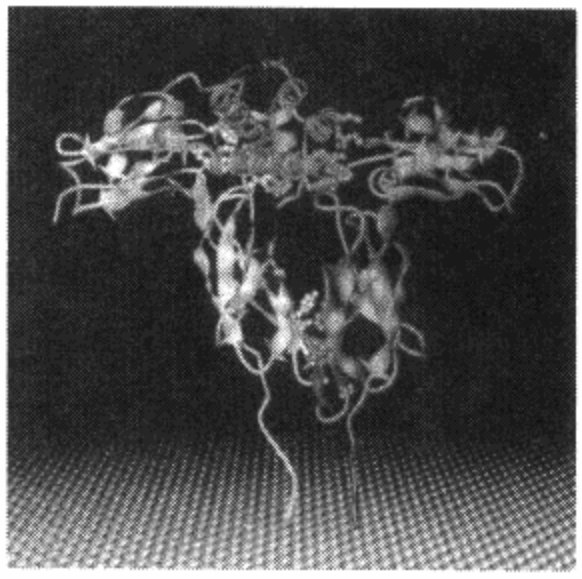


图 15-62　与其受体结合的人生长激素的三维结构

激素（红色）交联两个相同的受体（一个绿色，另一个蓝色）。激素的结合激活与受体的胞质尾（未标出）紧密结合的胞质酪氨酸激酶。所显示的结构是由对通过重组 DNA 技术所产生的激素和胞外受体结构域之间形成的复合体的 X 射线晶体学研究确定的。完全意外的是单体激素（如生长激素）交联其受体，因为交联需要两个相同的受体识别激素的不同部分。前面提到过，EGF 也交联其受体（摘自 A. M. deVos, M. Ultsch, and A. A. Kossiakoff, *Science* 255：306～312，1992. © AAAS.）

细胞因子受体是我们接下来介绍的酶联受体亚家族。细胞因子受体构成最大的和分歧最大的受体类型。这些受体依赖于胞质激酶将信号传递到细胞内，细胞因子受体包括许多种局部调质（总称为细胞因子）的受体和许多激素的受体，如生长激素（图 15-62）和催乳素。细胞因子受体稳定地与一类称为 Jak 的胞质酪氨酸激酶结合，Jak 激活称为 STAT 的潜在基因调控蛋白。正常情况下 STAT 蛋白是失活的，位于细胞表面；细胞因子或激素的结合导致 STAT 蛋白迁移到细胞核，并激活基因的转录。

细胞因子受体激活 Jak-STAT 信号转导途径，提供了一条快速进入细胞核的途径

许多胞内信号传递途径将信号从细胞表面受体传递到细胞核，在细胞核内改变基因转录。然而，**Jak-STAT 信号传递途径（Jak-STAT signaling pathway）**提供了一条最直接的途径。该信号传递途径是在对干扰素的效应研究中首次发现的，干扰素是细胞在应答病毒感染的过程中由细胞（尤其是白细胞）分泌的细胞因子。干扰素与未感染的相邻细胞的受体结合，诱导细胞产生增加对病毒感染的抗性蛋白质。当被活化时，干扰素受体激活一类称为 **Janu 激酶（Janus kinases，Jak）**（根据罗马双面神命名）的新胞质酪氨酸激酶。Jak 然后磷酸化和激活一套潜在基因调控蛋白，这些基因调控蛋白称为 STAT（信号转导与转录活化因子），STAT

移动到细胞核，促进特异基因的转录。30 多个细胞因子和激素通过与细胞因子受体结合激活 Jak-STAT 途径，表 15-5 列有某些细胞因子受体。

所有的 STAT 也具有一个 SH2 结构域，该结构域使 STAT 能停泊在某些活化的受体酪氨酸激酶的特异磷酸酪氨酸上。这些受体能直接激活与其结合的 STAT，不依赖于 Jak。事实上，线虫 *C. elegans* 将 STAT 用于信号传递，但不合成任何一种 Jak 或细胞因子受体，表明 STAT 在 Jak 和细胞因子之前进化出来。

表 15-5　通过细胞因子受体和 Jak-STAT 信号传递途径起作用的某些信号蛋白

信号配体	受体关联的 Jak	活化的 STAT	某些反应
γ 干扰素	Jak1 和 Jak2	STAT1	活化巨噬细胞；增加 MHC 蛋白表达
α 干扰素	Tyk2 和 Jak2	STAT1 和 STAT2	增加细胞对病毒感染的抗性
促红细胞生成素	Jak2	STAT5	促进红细胞的产生
催乳激素	Jak1 和 Jak2	STAT5	促进乳汁的产生
生长激素	Jak2	STAT1 和 STAT5	促进生长通过诱导 IGF-1 的生成
GM-CSF	Jak2	STAT5	促进粒性白细胞和巨噬细胞的产生
IL-3	Jak2	STAT5	促进早期血细胞的产生

细胞因子受体（cytokine receptor）是由两个或更多的多肽链组成。某些细胞因子受体链对某个特殊的细胞因子受体是特异的，而其他受体链在几种细胞因子受体中共用。然而，所有的细胞因子受体与一个或多个 Jak 结合。有 4 种已知的 Jak，即 Jak1、Jak2、Jak3 和 Tyk2，每种 Jak 与特异的细胞因子受体结合。例如，α 干扰素的受体与 Jak1 和 Jak2 结合（表 15-5）。正如所料，Jak1 缺陷的小鼠对这些干扰素并不做出应答。激素促红细胞生成素（促进红血球前体细胞存活、增殖和分化）的受体只与 Jak2 结合。在 Jak2 缺陷的小鼠中，红血球发育失败，小鼠在发育早期死亡。

细胞因子的结合要么诱导受体链寡聚化，要么重新定向寡聚物中链的方向。不管哪种情况，细胞因子的结合会将结合的 Jak 带到一起，相互磷酸化，从而增强其酪氨酸激酶结构域的活性。Jak 然后磷酸化细胞因子受体上的酪氨酸，为 STAT 和其他的信号蛋白创造了磷酸酪氨酸的停泊位点。

有 7 种已知的 STAT，每种具有一个 SH2 结构域，SH2 结构域行使两种功能。第一，SH2 结构域介导 STAT 蛋白与活化的细胞因子受体（或受体酪氨酸激酶）上的磷酸酪氨酸停泊位点结合；一旦结合，Jak 磷酸化 STAT 的酪氨酸，导致 STAT 与受体解离。第二，释放的 STAT 上的 SH2 结构域介导 STAT 与另一个 STAT 分子上的磷酸酪氨酸结合，形成 STAT 同二聚体或异二聚体。STAT 二聚体然后迁移到细胞核，与其他的基因调控蛋白一起，结合不同基因内的特异的 DNA 应答元件并激活这些基因的转录（图 15-63）。例如，在对催乳素（促进乳腺细胞产生乳汁的激素）的应答中，活化的 STAT 5 促进编码乳蛋白的基因的转录。

细胞因子受体激活适当的 STAT 蛋白，因为这些 STAT 的 SH2 结构域只识别这些受体上的特异的磷酸酪氨酸位点。例如，活化的 α 干扰素受体招募 STAT1 和 STAT2，而活化的 γ 干扰素受体只招募 STAT1。如果 α 干扰素受体的 SH2 结构域用 γ 干扰素受体的 SH2 结构域替换，活化的杂合受体招募 STAT1 和 STAT2，正如 α 干扰素受体本身一样。

STAT 介导的应答经常被负反馈调控。除了激活编码介导细胞因子诱导的反应的基因外，STAT 二聚体也可以激活编码抑制性蛋白质的基因。在某些情况下，抑制蛋白与活化的细胞

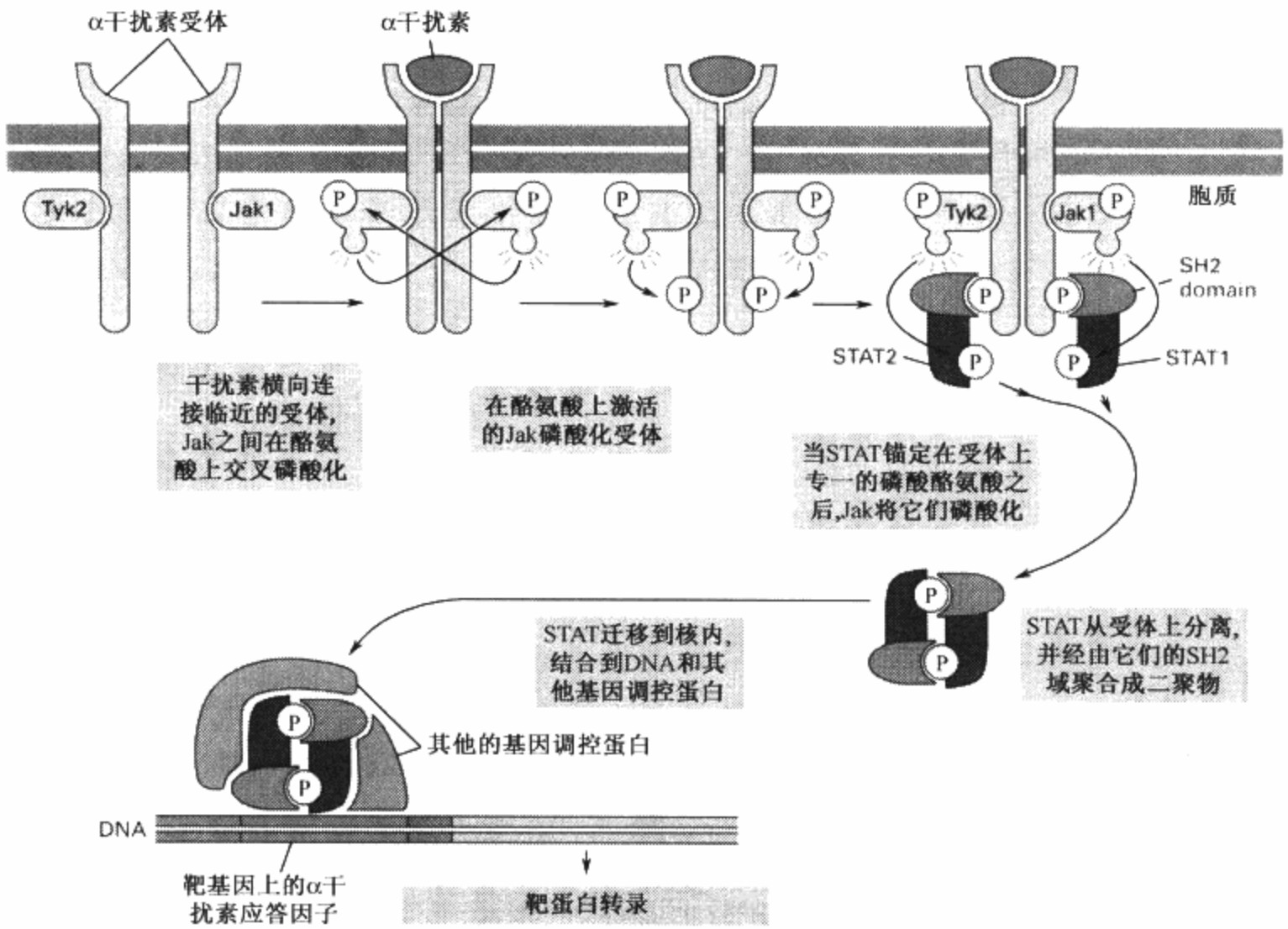


图 15-63　α 干扰素激活的 Jak-STAT 信号传递途径

干扰素的结合导致两个单独的受体多肽链二聚化（如图所示）或重新定位预先形成的二聚体中的受体链。无论哪种情况下，结合的 Jak 被带到一起，从而 Jak 能在酪氨酸上彼此交叉磷酸化，开始信号传递过程。两种不同的受体链与不同的 Jak（Tyk2 和 Jak1）结合，它们招募不同的 STAT（STAT1 和 STAT2）。当被磷酸化激活，STAT 与受体解离并形成异二聚体，它们结合细胞核内的特异 DNA 序列，在细胞核中 STAT 与其他基因调控蛋白一起诱导相邻基因的转录

因子受体和 STAT 蛋白结合，这阻止了 STAT 的进一步活化，并有助于关闭细胞应答；在其他情况下，抑制蛋白通过抑制 Jak 功能达到相同的结果。

然而，这种负反馈机制本身并不足以关闭细胞反应。活化的 Jak 和 STAT 也必须通过其磷酸酪氨酸的去磷酸化失活。和所有使用酪氨酸磷酸化的信号传递途径一样，去磷酸化是通过酪氨酸磷酸酶完成的，酪氨酸磷酸酶在该信号传递途径中与加磷酸基团的酪氨酸激酶一样重要。

某些蛋白酪氨酸磷酸酶可以充当细胞表面受体

前面介绍过，只有少数丝氨酸/苏氨酸磷酸酶的催化亚基负责从蛋白质的磷酸化丝氨酸和苏氨酸上去除磷酸基团。相比之下，人类基因组编码有大约 30 个**蛋白酪氨酸磷酸酶（PTP）（protein tyrosine phosphatase）**。与酪氨酸激酶一样，酪氨酸磷酸酶存在胞质和跨膜形式，这两种形式酪氨酸磷酸酶结构上都不与丝氨酸/苏氨酸磷酸酶相关。单个的蛋白酪氨酸磷酸酶对其底物表现出精密的特异性，只去除一亚组的酪氨酸被磷酸化的蛋白质上特异的磷酸基团。这些磷酸酶一起确保酪氨酸磷酸化是暂时的，静息细胞的酪氨酸磷酸化水平很低。然而，它们并不只是不断地逆转蛋白酪氨酸磷酸酶的效应；它们被调控只在信号传递应答或细胞分裂周期中的合适时间起作用（讨论见第 17 章）。

脊椎动物中有两个胞质酪氨酸磷酸酶具有 SH2 结构域，因此被称为 SHP-1 和 SHP-2（图 15-64）。SHP-1 通过去磷酸化活化的 Jak 有助于终止血细胞内的某些细胞因子反应。例如，不能招募 SHP-1 的突变的促红细胞生成素受体激活 Jak 的时间比正常情况更长。此外，SHP-1 缺陷的小鼠几乎所有的血细胞谱系出现异常，强调了 SHP-1 在血细胞发育中的重要性。SHP-1 和 SHP-2 也帮助终止某些受体酪氨酸激酶介导的反应。

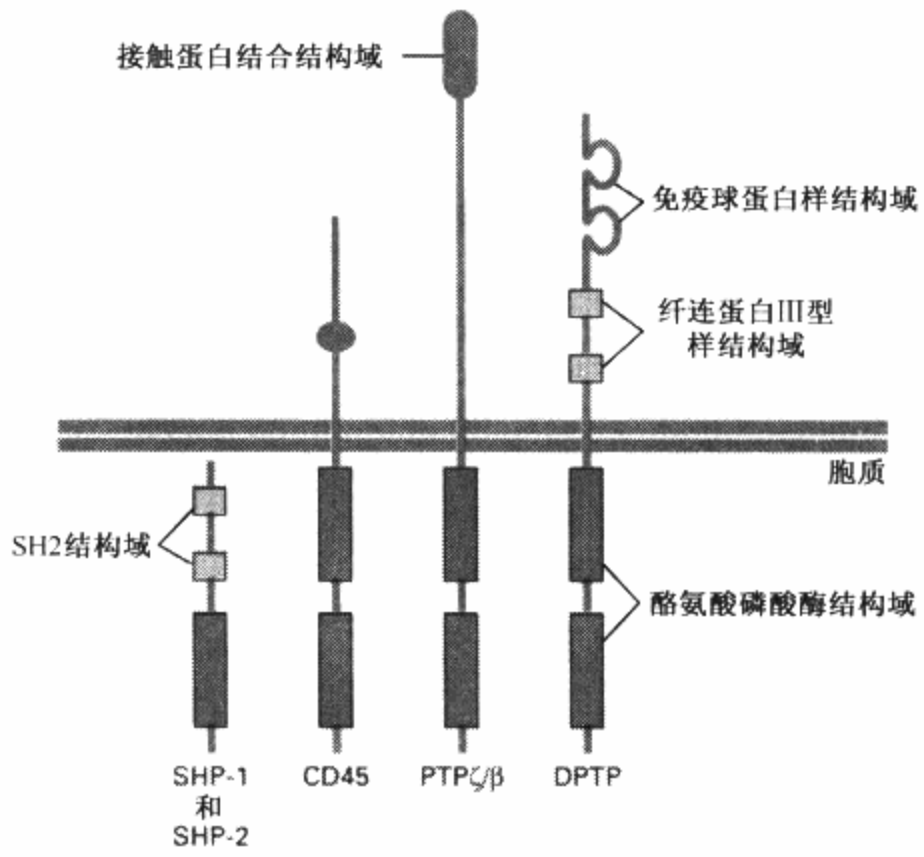


图 15-64　某些蛋白酪氨酸磷酸酶

胞质酪氨酸磷酸酶 SHP-1 和 SHP-2 具有相似的结构，具有两个 SH2 结构域。三个跨膜的受体样酪氨酸磷酸酶具有两个串联排列的胞内磷酸酶结构域，最靠近膜的一个提供大部分的或全部的催化活性。DPTP 是一种果蝇蛋白。图中其他蛋白质是哺乳动物蛋白质

有大量跨膜的蛋白酪氨酸磷酸酶，但大多数的功能是未知的。至少某些被认为充当受体；然而，因为这并未得到直接的证明，所以它们被称为**受体类似的酪氨酸磷酸酶（receptorlike tyrosine phosphatase）**。它们都具有单个的跨膜片段，通常在质膜的胞质面具有两个酪氨酸磷酸酶结构域。一个重要的例子是 CD45 蛋白（CD45 protein）（图 15-64）。CD45 蛋白位于所有白细胞的表面，在外源抗原激活 T 细胞和 B 细胞中起重要的作用。与 CD45 蛋白胞外结构域结合的假设配体还未找到。然而，通过利用重组 DNA 技术构建杂合蛋白来研究 CD45 在信号转导中的作用，该杂合蛋白具有胞外的 EGF 结合结构域和胞内的 CD45 酪氨酸磷酸酶结构域。令人惊讶的结果是 EGF 结合似乎失活杂合蛋白的磷酸酶活性，而不是激活磷酸酶。

该发现提出这种可能性，某些受体酪氨酸激酶和受体酪氨酸磷酸酶当结合各自的细胞表面结合的配体时可能合作（即激酶添加更多的磷酸，而磷酸酶去除更少的磷酸），最大化地促进胞内特异的信号蛋白上酪氨酸的磷酸化。然而，配体诱导的 CD45 磷酸酶的抑制的重要性仍然不明确，这似乎不可能是完整的事件；CD45 需要其磷酸酶活性以在淋巴细胞激活中起作用。

某些受体类似的酪氨酸磷酸酶表现出细胞黏附蛋白的特征，甚至在细胞黏附测定中能介导嗜同种的细胞-细胞结合（图 19-26）。例如，在发育的神经系统中，受体类似的酪氨酸磷酸酶可能在指导发育中的神经细胞轴突的生长顶端到其靶位点中起重要的作用。在果蝇中，编码几个受体类似的酪氨酸磷酸酶的基因只在神经系统中表达，当这些基因中的某些通过突变

被失活时，某些发育中的神经元的轴突不能找到它们通往正常的靶位点的方向。至少在某些情况下，正常轴突的导向需要蛋白磷酸酶活性以抵消胞质酪氨酸激酶的作用。

跨膜酪氨酸磷酸酶也能充当激活相邻细胞上受体的信号配体，如蛋白酪氨酸磷酸酶 ζ/β（图 15-64）。蛋白酪氨酸磷酸酶 ζ/β 在哺乳动物脑的某些神经胶质细胞表面表达。蛋白酪氨酸磷酸酶 ζ/β 与发育中的神经细胞上某个受体蛋白（称为接触蛋白）结合，促进细胞延伸长的突起。磷酸酶也可能在这种相互作用中向神经胶质细胞传递信号，但对于跨膜酪氨酸磷酸酶来说，这种双向的信号传递并未得到直接的证明。

已经介绍了酪氨酸磷酸化和去磷酸化在许多酶联受体激活的胞内信号传递途径中的重要作用，现在我们转向一类完全依赖于丝氨酸/苏氨酸磷酸化的酶联受体。与刚才介绍的 Jak-STAT 信号传递途径相比，这些跨膜的丝氨酸/苏氨酸激酶激活一种甚至更为直接的通往细胞核的信号传递途径。丝氨酸/苏氨酸激酶直接磷酸化称为 Smad 的潜在基因调控蛋白，然后 Smad 迁移到细胞核内激活基因转录。

TGF-β 超家族的信号蛋白通过受体丝氨酸/苏氨酸激酶和 Smad 起作用

转化生长因子 β 超家族（TGF-β）（transforming growth factor superfamily）由大量结构相关的、分泌的二聚体蛋白质组成。它们充当激素，或更为常见充当局部调质，调控所有动物中的许多生物功能。在发育过程中，它们调控模式形成，并影响不同的细胞行为，包括增殖、分化、胞外基质的产生和细胞死亡。此外，它们参与组织修复和免疫调节，以及许多其他过程。该超家族包括 TGF-β 本身，活化素和骨形成蛋白（BMP）。BMP 构成最大的家族。

所有的这些蛋白质通过酶联受体起作用，这些酶联受体是一次跨膜蛋白，在质膜的胞质面具有一个丝氨酸/苏氨酸激酶结构域。这些**受体丝氨酸/苏氨酸激酶（receptor serine/threonine kinase）**有两类——类型Ⅰ和类型Ⅱ。这两种类型结构相似。TGF-β 超家族的每一个成员与类型Ⅰ和类型Ⅱ受体的典型组合结合，两类受体对于信号传递来说都是必需的。一般来说，配体首先结合并激活类型Ⅱ受体的同二聚体，该同二聚体招募、磷酸化并激活类型Ⅰ受体的同二聚体，形成一个具有活性的四聚体受体复合体。

一旦活化后，受体复合体利用一种策略迅速地将信号传递到细胞核，该策略与细胞因子受体所用的 Jak-STAT 策略非常类似。然而，通向细胞核的途径甚至更为直接。类型I受体直接结合并磷酸化一个 **Smad 家族（Smad family）**的潜在基因调控蛋白（Smad 是根据最先鉴定的两个蛋白——*C. elegans* 中的 Sma 和果蝇中的 Mad 命名的）。活化的 TGF-β 受体和活化素受体磷酸化 Smad2 或 Smad3，而活化的 BMP 受体磷酸化 Smad1、Smad5 或 Smad8。一旦这些 Smad 中的一个被磷酸化后，该 Smad 从受体上解离并与 Smad4 结合，Smad4 能和上述 5 个受体活化的 Smad 中的任何一个形成复合体。然后，Smad 复合体迁移到细胞核，在细胞核内 Smad 复合体与其他基因调控蛋白结合，与 DNA 中特异位点结合，并激活一套特异的靶基因（图 15-65）。

某些 TGF-β 家族成员在发育过程中充当形态发生素的作用，在发育的细胞中根据其浓度诱导不同的反应（讨论见第 21 章）。可以通过实验改变核内活性 Smad 复合体的量以重新产生不同的反应，这表明这些复合体的水平可能提供受体活化水平的直接读出器。如果不同的靶基因中的 DNA 结合位点对 Smad 复合体具有不同的亲和力，那么活化的特异基因将反映在形态发生素的浓度梯度中的细胞位置。

与 Jak-STAT 途径一样，Smad 途径也经常受反馈抑制的调控。Smad 复合体激活的靶基因中有编码抑制性 Smad 的基因，包括 Smad6 和 Smad7。这些 Smad 充当诱饵。它们与活化的类型Ⅰ受体结合，并阻止其他 Smad 的结合。这阻止了活性 Smad 复合体的形成，关闭了对

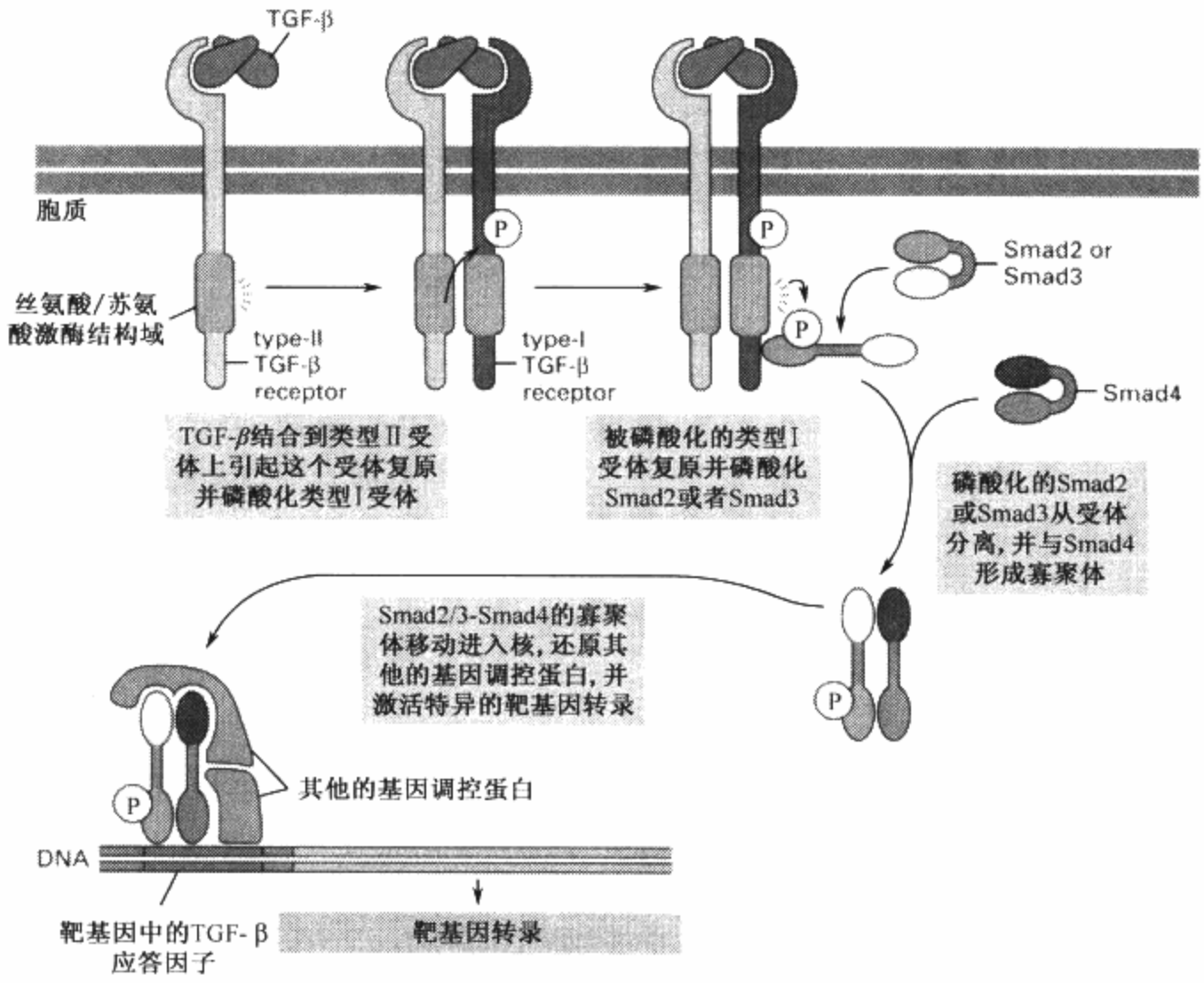


图 15-65　TGF-β 激活 Smad 依赖的信号传递途径的模型

注意 TGF-β 是二聚体，当 Smad 被磷酸化时，Smad 打开以接触二聚体表面。为了简单化，该途径的几个特征被省略，包括：①类型Ⅰ和类型Ⅱ受体速度表都被认为是二聚体。②类型Ⅰ受体正常情况下与抑制蛋白结合，当类型Ⅰ受体被类型Ⅱ受体磷酸化时抑制蛋白解离。③单个 Smad 被认为是三聚体。④一种锚定蛋白（称为 SARA，代表 smad anchor for receptor activation）通过与受体、Smad，以及质膜上的肌醇磷脂分子的结合有助于招募 Smad2 或 Smad3 到活化的类型Ⅰ受体。⑤某些 Smad 的功能是受增强 Smad 的泛素化和被它们降解的酶调控

TGF-β 家族配体的应答。其他类型的胞外配体也能促进抑制性 Smad 的产生，从而抵消 TGF-β配体的信号传递。例如，γ-干扰素激活 Jak-STAT 途径，所产生的活性 STAT 二聚体诱导 Smad7 的产生，Smad7 抑制 TGF-β 信号传递。

除了这些胞内抑制蛋白外，许多分泌的胞外抑制蛋白也能抵消 TGF-β 家族成员介导的信号传递。这些胞外抑制蛋白直接与信号分子结合，阻止信号分子激活靶细胞上的受体。例如，Noggin 和 chordin 抑制 BMP，follistatin 抑制活化素。Noggin 和 chordin 通过阻止 BMP 抑制神经系统的发育有助于诱导脊椎动物神经系统的发育（讨论见第 21 章）。TGF-β 家族成员及其某些抑制蛋白通常以无活性的前体分泌，前体随后被蛋白酶解切割激活。

现在我们转向既不是激酶也不与激酶结合的酶联受体。以前我们介绍过，一氧化氮被广泛地用作信号分子，以扩散方式通过靶细胞质膜，并促进胞质鸟苷酸环化酶产生胞内调质 cGMP，我们现在介绍的受体是具有鸟苷酸环化酶活性的跨膜蛋白。

受体鸟苷酸环化酶直接产生 cGMP

受体鸟苷酸环化酶（receptor guanylyl cyclase）是一次跨膜的蛋白，具有胞外信号分子的结合位点以及胞内的鸟苷酸环化酶催化亚基。信号分子的结合激活环化酶结构域产生 cGMP，cGMP 再结合并激活依赖于 cGMP 的蛋白激酶（PKG），PKG 在丝氨酸或苏氨酸上磷酸化特

异蛋白。因此，与 G 蛋白偶联受体利用 cAMP 一样，受体鸟苷酸环化酶利用 cGMP 作为胞内调质，除了配体结合和环化酶之间的连接是直接的。

利用受体鸟苷酸环化酶的信号分子中有利钠肽（NP），是一族结构相似的、分泌的信号肽，调控盐和水的平衡以及扩张血管。有几种类型的 NP，包括房钠素（ANP）和脑钠素（BNP）。当血压升高时，心房肌肉细胞分泌 ANP。ANP 促进肾脏分泌 Na^+ 和水，并诱导血管壁的平滑肌细胞松弛。这些效应都降低血压。当用基因打靶失活小鼠的 ANP 受体鸟苷酸环化酶时，小鼠的血压长期升高，导致渐进性的心脏扩张。

越来越多的受体鸟苷酸环化酶被发现，但大多数情况下这些发现的受体是孤儿受体，正常激活这些受体的配体仍不清楚。例如，线虫 *C. elegans* 基因组编码 26 个受体鸟苷酸环化酶。大多数已研究的受体鸟苷酸环化酶在特异亚群的感觉神经元中表达，表明这些受体鸟苷酸环化酶可能参与检测蠕虫环境中的特异分子。哺乳动物中的某些孤儿受体存在于鼻子的感觉神经元中，参与检测信息激素。

到目前为止我们介绍的 G 蛋白偶联受体和酶联受体激活的所有信号传递途径依赖于丝氨酸/苏氨酸特异的蛋白激酶，酪氨酸特异的蛋白激酶，或这两种蛋白激酶。这些激酶都结构相似，图 15-66 综述了这些激酶。然而，某些酶联受体依赖于另一类完全不相关的蛋白激酶，

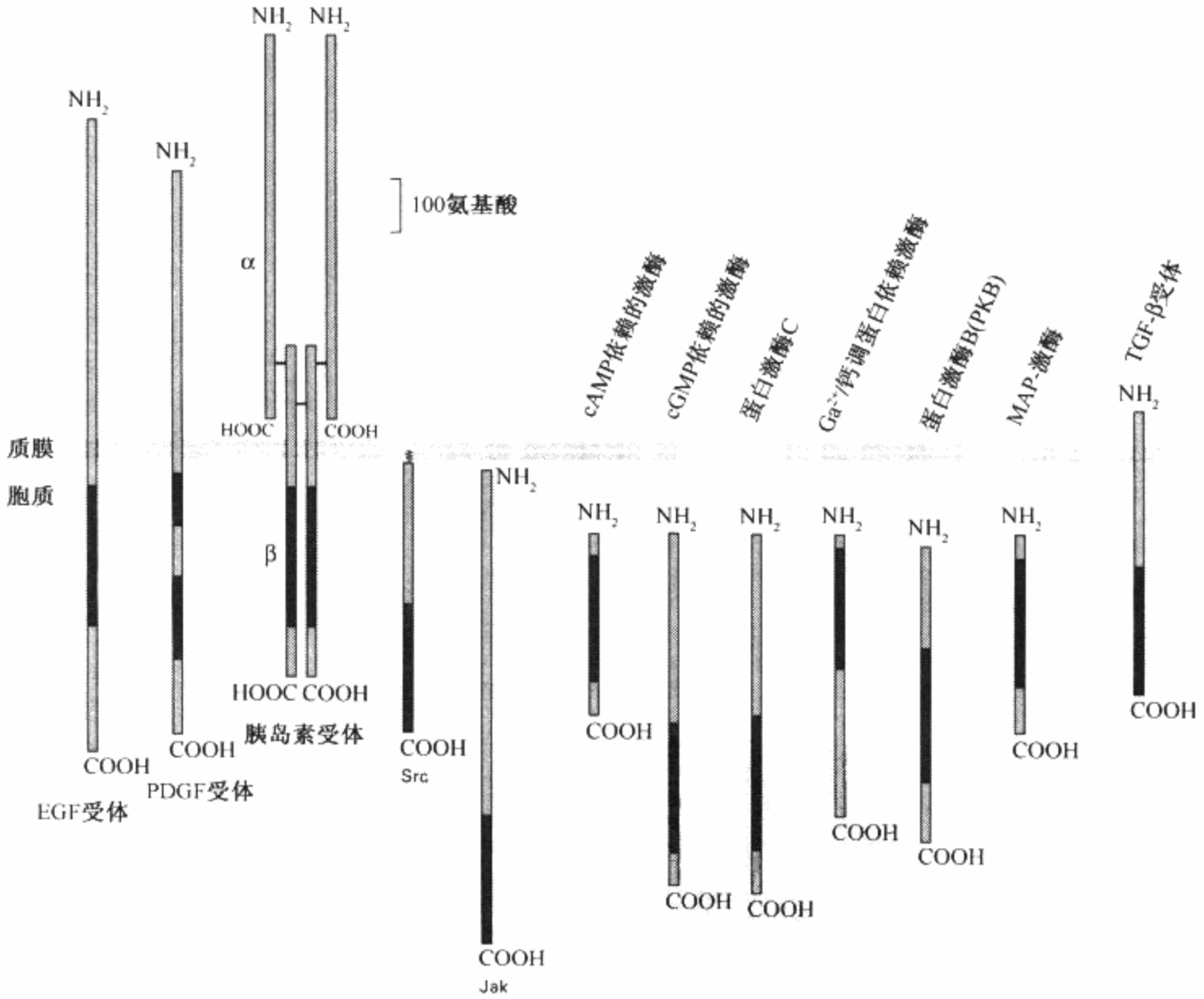


图 15-66　本章介绍的某些蛋白激酶

这些蛋白激酶的催化结构域（黑绿色）的大小和位置如图所示。每种受体的催化结构域有大约 250 个氨基酸长。这些结构域在氨基酸序列上相似，表明它们都是由一个共同的原始激酶进化而来（图 3-65）。注意图中所示的所有酪氨酸激酶与质膜结合（Jak 通过其与细胞因子受体结合与膜结合），而大多数丝氨酸/苏氨酸激酶位于细胞质中

我们现在介绍这类蛋白激酶。

细菌趋化性依赖于由组氨酸激酶关联受体激活的二元系统信号传递途径

前面指出过，参与多细胞动物的细胞之间化学信号传递的许多机制被认为是从单细胞生物应答环境的化学改变所使用的机制演变而来。事实上，某些相同的胞内调质，如环核苷酸和 Ca^{2+}，被这两种生物使用。单细胞生物对胞外信号的反应中研究得最详细的是单细胞生物的趋化反应，即细胞运动朝向或离开环境中的化学药品源。我们已简单介绍细菌趋化性来结束酶联受体部分，细菌趋化性依赖于**二元系统信号传递途径（two-component signaling pathway）**，该信号传递途径包括**组氨酸激酶关联受体（histidine-kinase-associated recepetor）**。酵母和植物使用相同类型的信号传递途径，但动物明显不使用这类信号传递途径。

能运动的细菌将游向更高浓度的营养素（吸引剂），如糖、氨基酸和小肽，而游离更高浓度的各种有毒的化学药品（驱避剂）。细菌通过鞭毛游动，鞭毛通过其基部短的可变形的钩附在嵌入细菌膜的小蛋白质圆盘上。该圆盘是小型马达的一部分，使用跨膜 H^+ 梯度储存的能量迅速旋转并转动细菌鞭毛（图 15-67）。因为细菌表面的鞭毛具有内在的“利左或利右”，即不同方向的旋转对运动具有不同的影响。逆时针旋转使所有的鞭毛团结起来形成黏着束，所以细菌向一个方向一致地游动。顺时针的旋转使所有的鞭毛分开，所以细菌混乱地滚动而不前进（图 15-68）。在缺乏环境刺激时，圆盘旋转的方向每隔几秒就换向，产生一种典型的运动模式，在该模式中以直线平滑游动被倒转所造成的突然的随机的方向改变所中断。

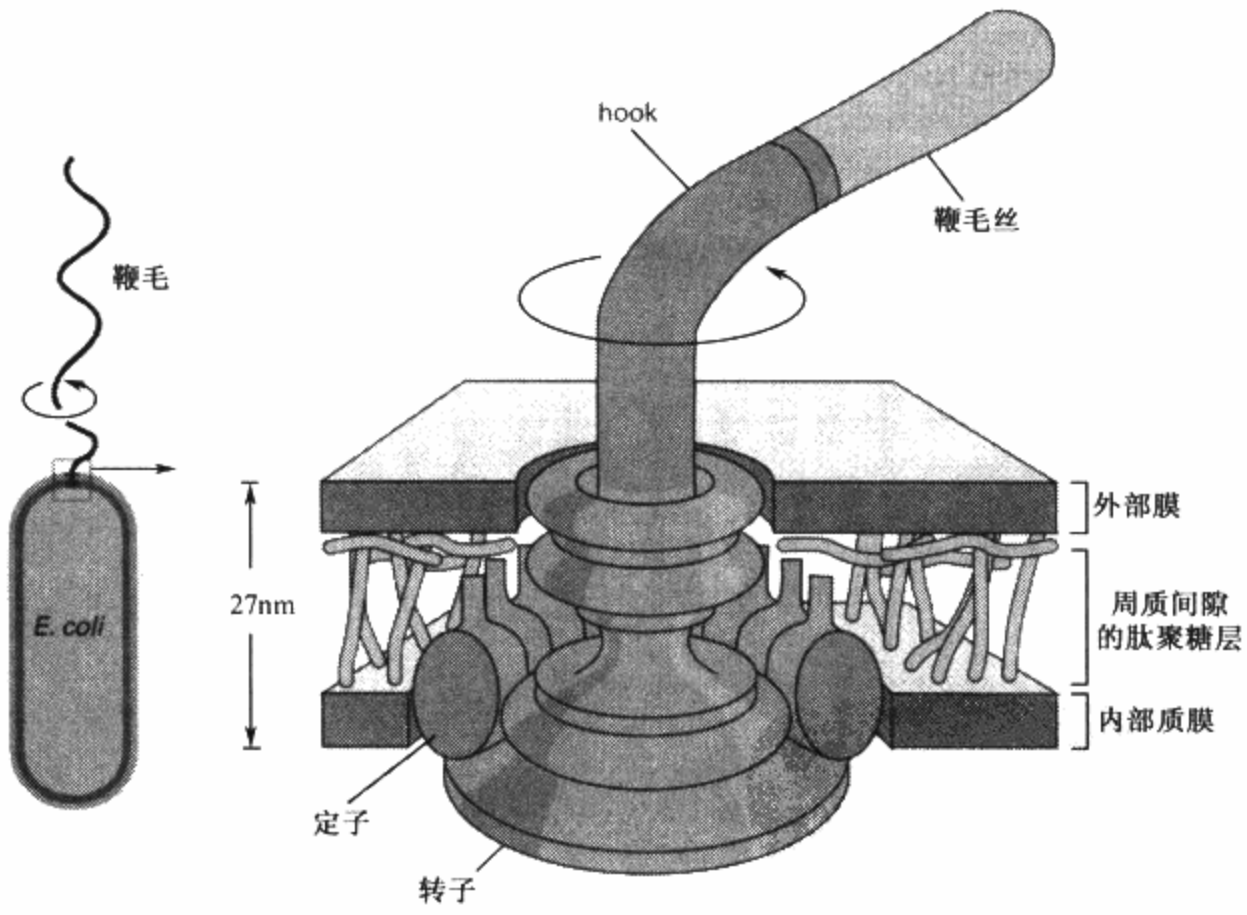


图 15-67　细菌鞭毛马达

鞭毛是与易弯曲的钩连接。钩是附在一系列的蛋白质环（红色所示）上，蛋白质环嵌在外膜和内（质）膜上。蛋白质环形成一个马达，该马达以每秒钟 100 多转的速度旋转鞭毛。旋转是由通过蛋白质的外环质子流驱动的（图 14-17），定子也含有负责转换旋转方向的蛋白质（摘自 T. Kubori et al., *J. Mol. Biol.* 226：433～446，1992，和 N. R. Francis et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89：6304～6308，1992. 的数据）

细菌的正常游动的行为被趋化性的吸引剂或趋避剂所修饰，吸引剂或趋避剂结合特异的受体蛋白并通过增加或减少鞭毛旋转方向的连续改变之间的间隔时间来影响倒转的频率。当

细菌向有利的方向（向更高浓度的吸引剂或远离更高浓度的趋避剂）游动时，它们倒转比当它们向不利的方向（或当不存在梯度）游动时更不频繁。既然平滑游动的周期比当细菌向有利方向游动时更长，那么细菌就逐渐向那个方向前进，即向着吸引剂或远离趋避剂。

这些反应是由组氨酸激酶关联的**趋化性受体（chemotaxis receptor）**介导的，典型的趋化性受体是结合质膜外特异的吸引剂和趋避剂的二聚体跨膜蛋白。受体的胞质尾稳定地与一个衔接蛋白 CheW 和一个组氨酸激酶 CheA 结合，CheW 和 CheA 有助于将受体偶联到鞭毛马达上。趋避剂的结合激活受体，而吸引剂结合使受体失活；单个受体能结合任一种分子，与这两种分子的结合具有相反结果。趋避剂与受体的结合激活 CheA，CheA 磷酸化自身上的组氨酸，并几乎立即将该磷酸转移到信使蛋白 CheY 上的天冬氨酸。磷酸化的 CheY 从受体上解离下来，在胞质内扩散，结合鞭毛马达，导致马达顺时针方向旋转，所以细菌倒转。CheY 具有内在的磷酸酶活性，并在一个被 CheZ 蛋白大大地促进的过程中去磷酸化自身(图 15-69)。

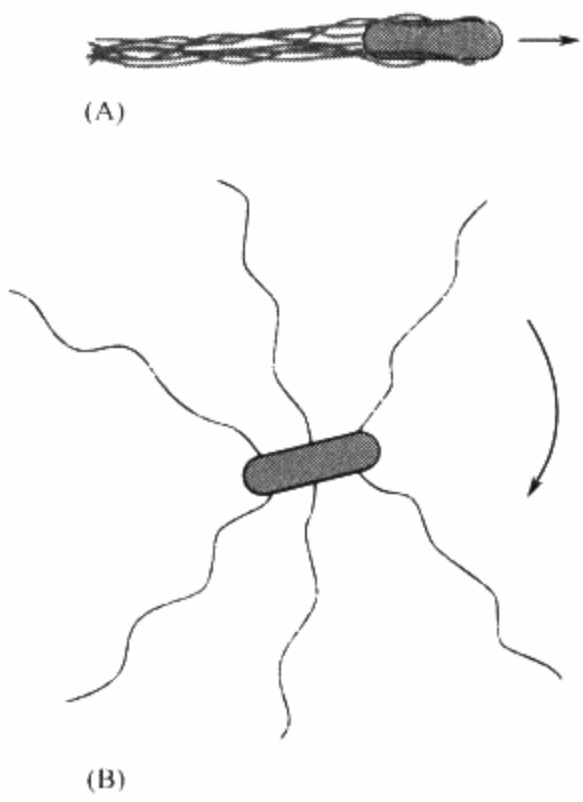


图 15-68　游动期间鞭毛在 *E. coli* 上的位置

（A）当鞭毛逆时针旋转时，它们被拉到一起形成束，充当螺旋桨以产生平滑游动。（B）当鞭毛顺时针游动时，它们分开产生倒转

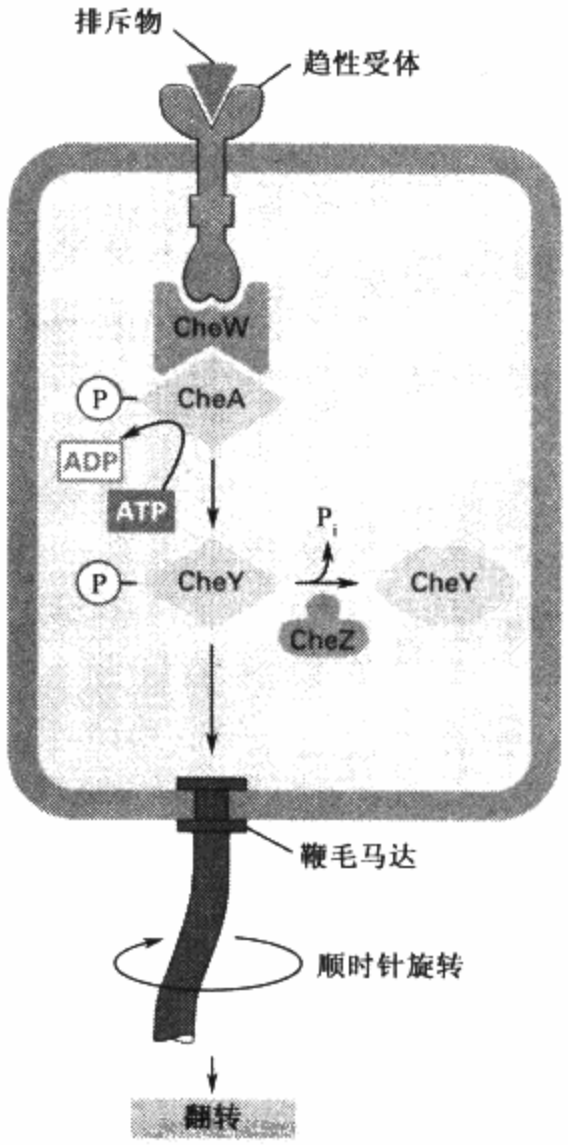


图 15-69　在细菌趋化性过程中使趋化性受体能控制鞭毛马达的二元信号传递途径

组氨酸激酶 CheA 通过衔接蛋白 CheW 稳定地与受体结合。趋避剂的结合增强受体的活性，受体激活 CheA 在组氨酸上磷酸化其自身。CheA 很快直接转移与其共价连接的高能磷酸到 CheY 以产生 CheY-磷酸，CheY-磷酸再扩散出去，与鞭毛马达结合，并导致马达顺时针旋转，从而导致倒转。吸引剂的结合具有相反的效应：吸引剂降低受体的活性，因此降低 CheA 和 CheY 的磷酸化，从而导致鞭毛马达的逆时针旋转和平滑游动。CheZ 加速 CheY-磷酸的自去磷酸化，从而失活 CheY。每种磷酸化中间物在大约 10s 内衰退，使细菌能非常快地对其生活环境的变化做出应答（图 15-10）

对吸引剂或趋避剂的浓度升高的应答只是瞬时的，即使维持更高的配体水平，因为细菌脱敏或适应增加的刺激。最初对倒转的效应发生在不到 1s 的时间内，而适应则需要数分钟时间。适应是反应的一个重要的部分，因为适应使细菌能适应配体浓度的变化，而不是稳态水平。适应是由趋化性受体的共价甲基化（甲基转移酶催化的）和去甲基化（甲基酶催化的）介导的，当被甲基化时趋化性受体改变它们对配体结合的反应能力。

参与这种高度适应行为的所有基因和蛋白质现在已经鉴定到。因此，细菌趋化性可能将是第一个在分子水平上被完全研究的信号传递系统。即使在这个相对简单的信号传递网络中，需要以计算机为基础的模拟去理解该系统如何作为一个集成网络工作。细胞信号传递途径将为新一代的计算生物学家提供一个特别丰富的研究领域，因为它们的网络性质在没有强大的计算工具的帮助是没法理解的。

有某些细胞表面受体并不符合我们迄今介绍的这三大类受体，即离子通道偶联受体、G 蛋白偶联受体和酶联受体。在下一部分，我们介绍激活依赖于蛋白酶解的信号传递途径的细胞表面受体。这些信号传递途径在动物发育中起特别重要的作用。

小结

有 5 类已知的酶联受体：①受体酪氨酸激酶，②酪氨酸激酶关联受体，③受体丝氨酸/苏氨酸激酶，④跨膜鸟苷酸环化酶，以及⑤组氨酸激酶关联受体。此外，某些跨膜酪氨酸磷酸酶（从特异蛋白的磷酸酪氨酸侧链上去除磷酸）被认为充当受体，但其大部分配体并不知道。前两类受体数量最多。

配体与受体酪氨酸激酶的结合诱导受体在多个酪氨酸上交叉磷酸化它们的胞质结构域。自磷酸化激活受体酪氨酸激酶，并产生一套磷酸酪氨酸，然后磷酸酪氨酸充当一套胞内信号蛋白的停泊位点，这些信号蛋白通过其 SH2（或 PTB）结构域结合磷酸酪氨酸。某些停泊蛋白充当衔接蛋白以偶联受体和小 GTP 酶 Ras，Ras 再激活丝氨酸/苏氨酸磷酸化级联反应，该磷酸化级联反应集中于 MAP 激酶，MAP 激酶通过磷酸化细胞核内的基因调控蛋白将信号传递到细胞核。Ras 也能激活另一个停泊在活化的受体酪氨酸激酶 PI3 激酶的蛋白，PI3 激酶产生特异的肌醇磷脂，肌醇磷脂充当质膜上的停泊位点，具有 PH 结构域的信号蛋白，包括蛋白激酶 B（PKB）。

酪氨酸激酶关联受体的作用依赖于各种胞质酪氨酸激酶。这些激酶包括许多种与受体结合的 Src 家族的成员，以及与成簇黏附处的整合蛋白结合的成簇黏附激酶（FAK）。胞质酪氨酸激酶然后磷酸化许多种信号蛋白以向前传递信号。该类型中的最大家族受体是细胞因子受体家族。当被配体结合激活时，这些受体激活 Jak 胞质酪氨酸激酶，Jak 磷酸化 STAT。STAT 然后二聚化，迁移到细胞核，并激活特异基因的转录。TGF-β 超家族的信号蛋白激活受体丝氨酸/苏氨酸激酶，受体丝氨酸/苏氨酸激酶的作用方式与胞质酪氨酸激酶相似：它们直接磷酸化并激活 Smad，然后与其他的 Smad 寡聚化，迁移到细胞核，并激活基因转录。

细菌趋化性是由组氨酸激酶关联的趋化性受体介导的。当被趋避剂的结合激活时，受体激活与其关联的蛋白激酶在组氨酸上磷酸化它本身，然后将磷酸转移到信使蛋白上，信使蛋白再将信号传递到鞭毛马达以改变细菌的游动行为。吸引剂对该激酶具有相反的效应，因此对游动也具有相反的效应。

依赖于可调控的蛋白酶解的信号转导途径

在动物发育过程中，对胞内信号传递的需要是最重要的。胚胎中每一个细胞根据其历史、位置和相邻细胞的特征，必须被指导沿着一条发育途径或另一条途径发育。在发育途径中的每一步，细胞必须与相邻细胞交换信息以协调它与其他细胞的行为。大多数已介绍的信号传递途径被广泛地用于这些目的。但也有其他信号传递途径以其他的方式将信号从细胞表面受体传递到细胞内部。这些另外的信号传递途径都至少部分地依赖于可调控的蛋白酶解。尽管它们中大多数是通过果蝇的遗传研究首次发现的，但它们在过化过程中高度保守，在动物发育过程中被反重使用。我们在第 22 章中将介绍，它们在成体组织中所继续的许多发育过程中起重要作用。

我们在本节介绍这些信号传递途径中的 4 种：受体蛋白 Notch 介导的途径、分泌的 Wnt 蛋白激活的途径、分泌的 Hedgehog 蛋白激活的途径以及依赖于潜在基因调控蛋白 NF-κB 激活的途径。所有的这些途径在动物发育中起重要作用。例如，如果任何一个上述途径在小鼠中被失活，那么发育被严重破坏，小鼠在胚胎期或出生时死亡（我们在第 21 章介绍 Notch、Wnt 和 Hedgehog 信号传递在胚胎发育中的作用）。

受体蛋白 Notch 通过切割被激活

Notch 受体蛋白介导的信号传递可能是动物发育中使用最广泛的信号传递途径，第 21 章将介绍。Notch 在发育过程中在控制细胞命运选择中起普遍作用，主要通过扩散和巩固相邻细胞之间的分子差异。尽管 Notch 信号传递参与大多数组织的发育，Notch 信号传递最清楚的是在果蝇神经细胞的产生中的作用。神经细胞通常在上皮层原体细胞内以独立的单细胞出现。在这一过程中，每个未来的神经细胞或定型的神经细胞前体传递信号给相邻细胞，让它们不同时以相同的方式发育，这一过程称为侧抑制。例如，在果蝇胚胎中，未来神经细胞前体细胞周围被抑制的细胞发育成表皮细胞。侧抑制依赖于接触依赖的信号传递机制，位于未来神经细胞表面的称为 Delta 的信号蛋白介导了该信号传递。通过与相邻细胞上的 Notch 结合，Delta 传递信号给相邻细胞，让它们不要变成神经细胞（图 15-70）。当该信号传递过程在 flies 中缺陷时，神经细胞的相邻细胞也发育为神经细胞，以表皮细胞为代价产生大量的神经元，这是致死的。相邻细胞之间 Notch 和 Delta（或 Delta 类似配体 Serrate）介导的信号传递在不同的组织和动物中调控细胞命运选择，有助于形成不同细胞类型的精细模式。Notch 介导的信号除了侧抑制外还有其他的效应。例如，在某些组织中。Notch 的作用方式相反，导致相邻细胞行为相似。

Notch 和 Delta 都是一次跨膜蛋白，都需要蛋白酶解加工才能行使功能。尽管仍不清楚 Delta 如何必须被切割，但 Notch 的切割对 Notch 的活化如何改变细胞核内基因表达是关键的。当被另一细胞上 Delta 的结合激活时，某个胞内蛋白酶切下 Notch 的胞质尾，释放的胞质尾迁移到细胞核激活一套 Notch 应答基因的转录（Notch 尾通过与称为 CSL 的基因调控蛋白结合起作用的 CSL 之所以这样命名，是因为该蛋白质在哺乳动物中被称为 CBF1，在 flies 中被称为 Hairless 抑制蛋白，以及在蠕虫中被称为 Lag-1 ）；Notch 尾的结合将 CSL 从转录抑制蛋白转变为转录激活蛋白。直接受 Notch 信号传递激活的主要基因产物本身就是基因调控蛋白，但具有抑制作用：它们抑制神经细胞分化（神经系统中）所必需的基因表达和其他

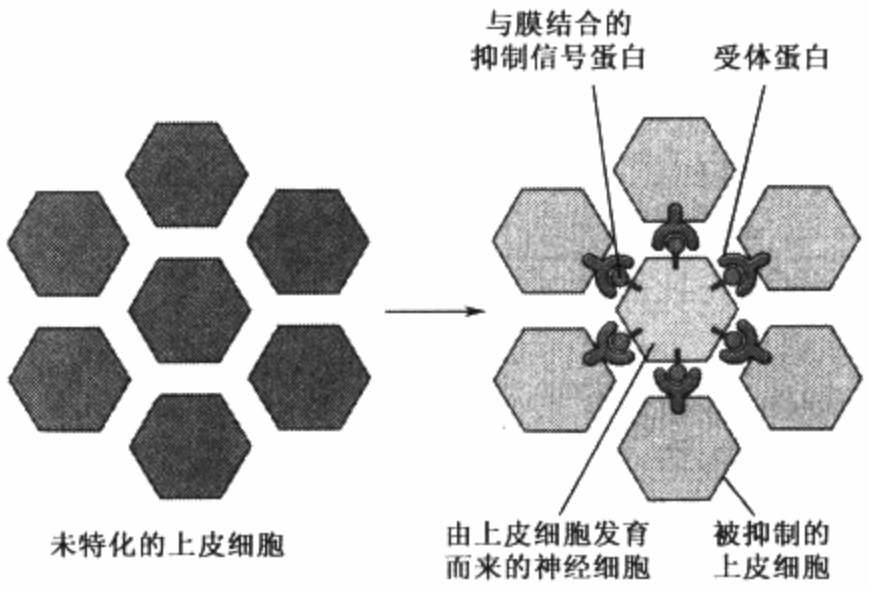


图 15-70　在果蝇神经细胞分发育过程中 Notch 和 Delta 介导的侧抑制

当上皮组织中单个细胞作为神经细胞开始发育时，它们将信号传递给相邻细胞让它们不要发育成神经细胞。这种抑制的接触依赖信号传递是由配体 Delta 介导的，Delta 出现在未来神经细胞的表面，与相邻细胞上的 Notch 蛋白结合。在许多组织中，一群细胞中的所有细胞起先表达 Delta 和 Notch，这些细胞发生竞争，其中一个细胞作为胜利者出现，该细胞强烈地表达 Delta 并抑制相邻细胞采取相同的发育命运。在其他情况下，另外的因子与 Delta 或 Notch 相互作用使某些细胞对侧抑制信号敏感，而其他对侧抑制信号不敏感

组织中不同的其他基因的表达。

Notch 受体进行了三次蛋白酶解切割，但只有最后两次依赖于 Delta。作为正常生物合成的一部分，一种称为 furin 的蛋白酶在高尔基体中起作用。在未来的胞外结构域内切割新合成的 Notch 蛋白。这次切割将 Notch 转变成一个异二聚体，然后该异二聚体作为成熟受体被转运到细胞表面。Delta 与 Notch 结合诱导胞外结构域内的第二次切割，这次切割是由另一种不同的蛋白酶介导的。很快接着最后一次切割，切下活化的受体的胞质尾（图 15-71）。

Notch 尾的切割发生在非常靠近质膜的地方，正好在跨膜片段内。在这方面，Notch 尾的切割像另一个更凶恶的跨膜蛋白——β-淀粉状蛋白前体蛋白（APP）的切割。APP 在神经元中表达，并参与阿尔茨海默（氏）病的发生。APP 在跨膜片段内被切割，释放一个肽片段到脑的胞外空间，另一个肽片段释放到神经元的胞质内。在阿尔茨海默（氏）病中，胞外片段过量地积累，并聚集成形成淀粉样蛋白斑的纤维，淀粉样蛋白斑被认为伤害神经细胞和造成神经元的丢失。早发的阿尔茨海默（氏）病最经常的遗传原因是早老因子-1（PS-1）基因内的突变，PS-1 基因编码一个参与 APP 的切割的 8 次跨膜蛋白。PS-1 的突变导致以增加的速率将 APP 切割成淀粉样蛋白斑形成的片段。*C. elegans*、果蝇和小鼠中的遗传证据表明 PS-1 蛋白是 Notch 信号传递途径中的一个必需组分，有助于进行激活 Notch 的最后一次切割。事实上，在 PS-1 缺陷细胞中，Notch 信号传递和切割大大地受损。

值得注意的是，Notch 信号传递受糖基化调控。Fringe 家族的糖基转移酶将加另外的糖肽添加到 Notch 上的 *O*-连接的寡糖（讨论见第 13 章），从而改变了 Notch 的配体特异性。这提供了通过受体的差异糖基化来对配体-受体信号传递的调控的第一个例子。

Wnt 蛋白结合 Frizzled 受体并抑制 β-连环蛋白的降解

Wnt 蛋白（Wnt protein）是分泌的信号分子，充当局部调质控制所有已研究的动物中发

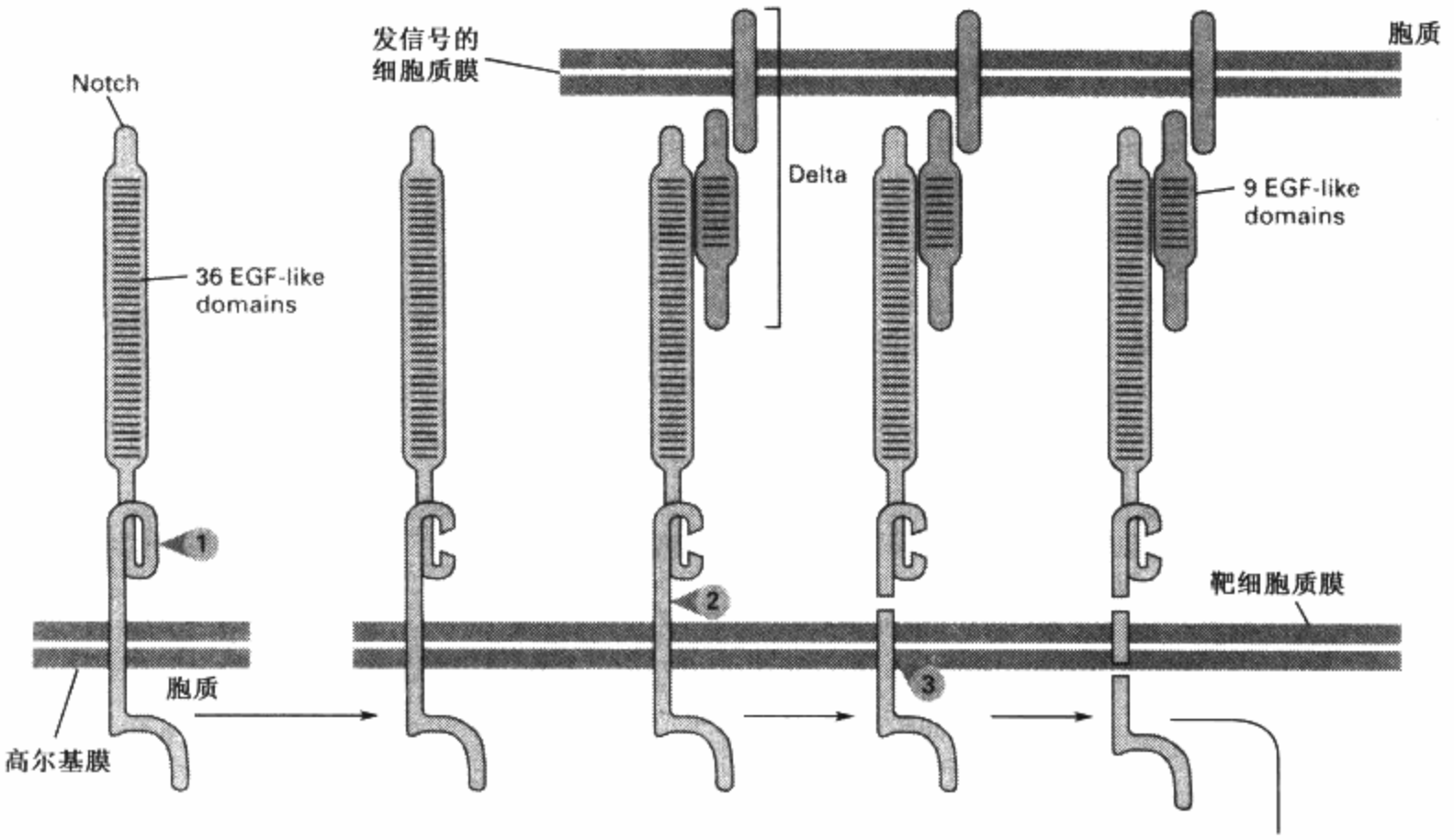


图 15-71　蛋白酶解对 Notch 的加工和激活

编号的红色箭头是指蛋白酶解切割的位点。第一个蛋白酶解加工的步骤发生在反式高尔基网络，产生成熟的异二聚体 Notch 受体，Notch 受体再展示在细胞表面。Delta（展示在相邻细胞表面）的结合引发下两次切割的步骤。注意 Notch 和 Delta 是通过它们的重复 EGF 样结构域相互作用。某些证据表明相互作用的细胞的胞吞机器对 Notch 施加的张力引发在位点 2 的切割

育的许多方面。Wnt 蛋白在果蝇和小鼠中独立被发现：在果蝇中，*Wingless*（*wg*）基因最初是因为它在翅膀发育中的作用被发现；而在小鼠中，*Int-1* 基因的发现是因为病毒整合到它附近被激活时，它促进乳房肿瘤的发生。Wnts 的细胞表面受体属于 7 次跨膜蛋白 Frizzled 家族。Frizzled 受体结构上像 G 蛋白偶联受体。某些 Frizzled 受体通过前面介绍的 G 蛋白和肌醇磷脂途径进行信号传递。然而，Frizzled 受体主要通过不依赖于 G 蛋白的途径进行信号传递，该途径需要一种称为 Dishevelled 的胞质信号蛋白。

研究最清楚的依赖于 Dishevelled 的途径通过调控称为 **β-连环蛋白**（或果蝇中的 Armadillo）的多功能蛋白的蛋白酶解起作用，β-连环蛋白在细胞-细胞黏着中行使功能，并充当一种潜在基因调控蛋白。Wnt 通过与 Frizzled 蛋白和辅受体蛋白结合激活该途径。辅受体蛋白与低密度脂蛋白（LDL）受体蛋白（讨论见第 13 章）相关，因此被称为 LDL 受体相关蛋白

(LDL)。目前不清楚 Frizzled 和 LRP 如何激活 Dishevelled，Dishevelled 再将信号传递下去。

在缺失 Wnt 信号传递时，大多数的细胞 β-连环蛋白位于细胞-细胞黏着连接肌肉，在连接处 β-连环蛋白与钙黏素结合，钙黏素是跨膜的黏着蛋白。第 19 章中将介绍，这些连接中的任何 β-连环蛋白将帮助与细胞骨架连接。任何不与钙黏素结合的 β-连环蛋白在胞质中被迅速地降解。这种降解依赖于一个大的降解复合体，该降解复合体招募 β-连环蛋白，包含至少三种其他蛋白质［图 15-72（A）］：

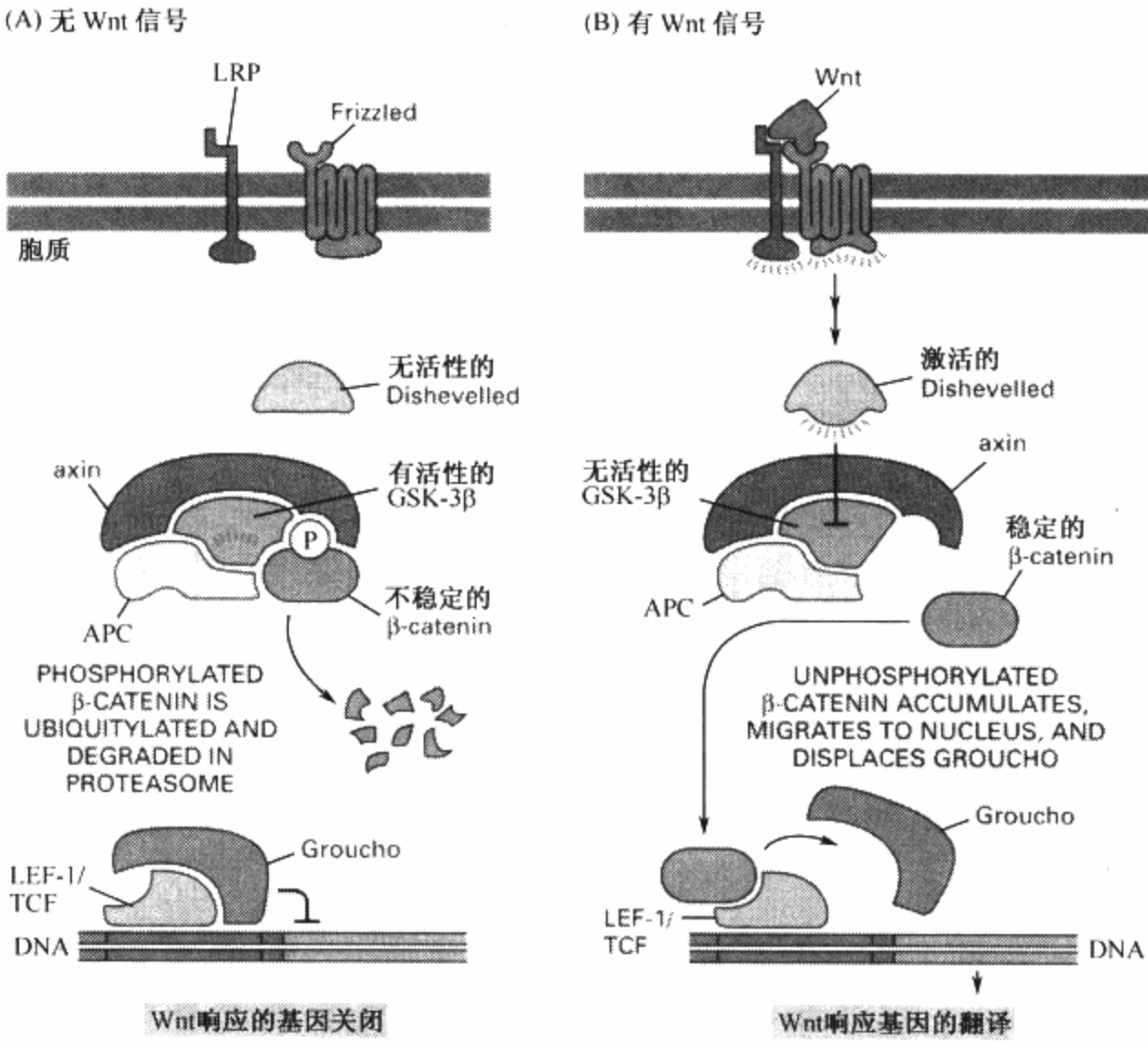


图 15-72　β-连环蛋白信号传递途径的 Wnt 激活模型

（A）在缺乏 Wnt 信号时，某些 β-连环蛋白与钙黏蛋白（未标出）的胞质尾结合，任何胞质 β-连环蛋白与 APC-axin-GSK-3β 降解复合体结合。在这个复合体中，β-连环蛋白被 GSK-3β 磷酸化，引发它的泛素化和在蛋白酶体中的降解。Wnt 应答基因被与基因调控蛋白 LEF-1/TCF 结合的 Groucho 辅阻遏物蛋白失活。（B）Wnt 与 Frizzled 和 LRP 的结合通过一种未知的机制激活 Dishevelled。通过一种同样神秘的机制［需要酪蛋白激酶 1（未标出）］，这导致 GSK-β3 在降解复合体中的失活。因此，β-连环蛋白的磷酸化和降解被抑制，β-连环蛋白在细胞质和细胞核中积累。在细胞核中，β-连环蛋白结合 LEF-1/TCF，置换掉 Groucho，并充当辅激活蛋白以激活 Wnt 靶基因的转录

1. 一种称为**糖原合成酶激酶-3β（glycogen synthase kinase-3β，GSK-3β）**的丝氨酸/苏氨酸激酶磷酸化 β-连环蛋白，从而标记该蛋白质泛素化和在蛋白酶体内的迅速降解。

2. 肿瘤抑制蛋白**腺瘤性结肠息肉病蛋白（adenomatous polyposis coli，APC）**，之所以这样命名，是因为编码基因在一种良性结肠瘤（腺瘤）中经常被突变。该肿瘤以息肉形式突入内腔，最终变成恶性的。APC 帮助通过增强降解复合体对 β-连环蛋白的亲和力，促进 β-连环

蛋白的降解，这对于β-连环蛋白被 GSK-3β 的有效磷酸化是必需的。

3. 一种称为 axin 的支架蛋白将蛋白复合体固定在一起。

Wnt 蛋白与 Frizzled 和 LRP 的结合导致抑制β-连环蛋白的磷酸化和降解。详细的机制并不清楚，但它需要 Dishevelled 和其他几种与 Dishevelled 结合的信号蛋白，包括称为酪蛋白激酶 1 的丝氨酸/苏氨酸激酶。因此，未磷酸化的β-连环蛋白在胞质和细胞核内积累［图 15-72（B)］。

在细胞核内，Wnt 信号传递的靶基因正常情况下通过一个基因调控蛋白的抑制复合体保持沉默的。该抑制复合体包括与辅抑制蛋白 Groucho 结合的 LEF-1/TCF 家族蛋白［图 15-72（A)］。由 Wnt 信号传递造成的未降解β-连环蛋白的增加，使β-连环蛋白能进入细胞核，并与 LEF-1/TCF 结合，替换掉 Groucho。β-连环蛋白充当辅激活蛋白，诱导 Wnt 靶基因的转录［图 15-72（B)］。

被β-连环蛋白激活的基因中有 *c-myc* ，*c-myc* 编码一种蛋白质（c-Myc)，该蛋白质是细胞生长和增殖强有力的促进蛋白（讨论见第 17 章)。80%的人结肠癌发生 APC 基因的突变。这些突变抑制该蛋白结合β-连环蛋白的能力，所以β-连环蛋白在细胞核内积累，并促进 c-myc 和其他 Wnt 靶基因的转录，甚至在缺乏 Wnt 信号传递时。所导致的不受控制的细胞增殖促进了癌症的发生。

Hedgehog 蛋白通过彼此作用相反的 Patched 和 Smoothened 的受体复合体起作用

与 Wnt 蛋白一样，**Hedgehog** 蛋白是一族分泌的信号分子。在无脊椎动物和脊椎动物的许多发育过程中充当局部调质。在发育过程中 Hedgehog 途径的异常是致死的，成体细胞中 Hedgehog 途径的异常也能导致癌症。Hedgehog 蛋白在果蝇中被发现，果蝇中编码该蛋白质的唯一基因上的突变产生具有钉状突起（小齿）的像刺猬的幼虫。在脊椎动物中，至少有 3 个基因编码 Hedgehog 蛋白，即 *sonic*、*desert* 和 *indian hedgehog* 。所有 Hedgehog 蛋白的活性形式是独特的，因为 Hedgehog 蛋白与胆固醇共价连接，胆固醇有助于限制 Hedgehog 蛋白分泌后的扩散。在一个显著的加工步骤中胆固醇被加工，在这加工过程中 Hedgehog 蛋白切割自身。Hedgehog 蛋白也通过脂肪酸链的添加被修饰，脂肪酸链对于 Hedgehog 蛋白的信号传递活性是必需的。

两个跨膜蛋白 Patched 和 Smoothened 介导对所有 Hedgehog 蛋白的应答。**Patched** 被预测跨膜 12 次，并且它是结合 Hedgehog 蛋白的受体。在缺乏 Hedgehog 信号时，Patched 抑制 Smoothened 的活性。Smoothened 具有与 Frizzled 蛋白结构类似的 7 次跨膜蛋白。当 Hedgehog 蛋白结合 Patched 时，这种抑制得以消除，使 **Smoothened** 能将信号传递到细胞内。大多数我们知道的关于 Smoothened 激活的下游信号传递途径来自于果蝇的遗传研究，我们在此总结的正是果蝇的途径。

在某些方面果蝇中的 Hedgehog 信号传递途径与 Wnt 途径的作用方式相似。在缺乏 Hedgehog 信号时，一种称为 Cubitus interruptus（Ci）的基因调控蛋白在蛋白酶体中被蛋白酶解切割。然而，并不是完全被降解，它被加工以形成更小的蛋白质，在细胞核内积累，并充当转录抑制蛋白，有助于使 Hedgehog 应答基因关闭。Ci 蛋白的蛋白酶解加工依赖于一个大的多蛋白质复合体，该复合体含有一个功能未知的丝氨酸/苏氨酸激酶（称为 Fused)、一个使复合体与微管（使 Ci 在细胞核外）结合的锚定蛋白（称为 Costal)，以及一个衔接蛋白

(称为 Fused 抑制蛋白)[图 15-73 (A)]。当 Hedgehog 结合 Patched 从而激活该信号传递途径时，Ci 的加工被抑制，未加工的 Ci 蛋白从复合体中释放出来，并进入细胞核，在细胞核 Ci 蛋白激活 Hedgehog 靶基因的转录[图 15-73 (B)]。

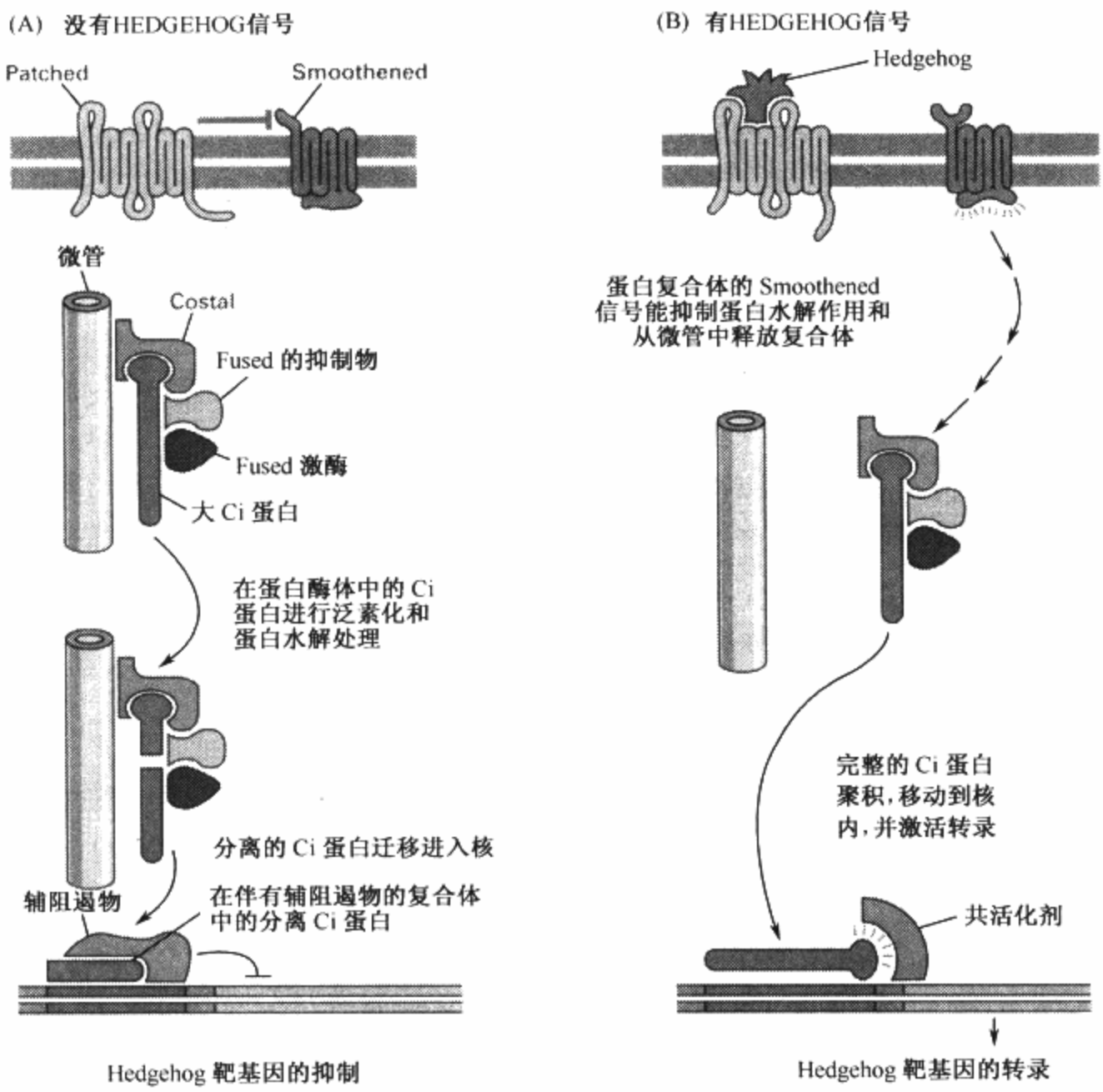


图 15-73　果蝇中 Hedgehog 信号传递的模型

(A) 在缺乏 Hedgehog 时，Patched 受体可能通过促进 Smoothened 的降解或胞内隔离来抑制 Smoothened。Ci 蛋白位于蛋白质复合体，被切割形成转录抑制蛋白，转录抑制蛋白在细胞核中积累，从而帮助使 Hedgehog 靶基因失活。该蛋白质复合体包括丝氨酸/苏氨酸激酶 Fused、锚定蛋白 Costal (将复合体结合到微管)，以及衔接蛋白 Fused 抑制蛋白。(B) Hedgehog 与 Patched 的结合释放了 Smoothened 的抑制，Smoothened 将信号传递给该蛋白复合体以停止加工 Ci，从微管中解离，释放未加工的 Ci，所以 Ci 能在细胞核中积累并激活 Hedgehog 应答基因的转录。该途径中的大多数分子事件不知道

Ci 激活的基因中有编码 Wnt 蛋白 Wingless 的基因，Wingless 帮助模式化果蝇胚胎中的组织（讨论见第 21 章）。另一个靶基因是 *patched* 本身。所导致的细胞表面 Patched 蛋白的增加抑制进一步的 Hedgehog 信号传递，这是一种负反馈的形式。

Hedgehog 信号传递途径中的许多缺口仍有待于填补。例如，不知道 Patched 如何抑制 Smoothened，Smoothened 如何激活 Hedgehog 信号传递途径，Ci 的蛋白酶解如何受到调控 (尽管知道 PKA 对 Ci 的磷酸化是该加工所必需的)，或复合体从微管中的释放和未加工的 Ci

从复合体中的释放如何受到控制的。

关于脊椎动物细胞中的 Hedgehog 途径知道得更少。除了至少有三种类型的脊椎 Hedgehog 蛋白外，还有两种形式的 Patched 和三种 Ci 类似的蛋白（Gli1、Gli2 和 Gli3）。与果蝇中的不一样，Hedgehog 信号传递促进 Gli 基因的转录，不清楚是否所有的 Gli 蛋白进行蛋白酶解加工，但有证据证实 Gli3 进行蛋白酶解加工。

人 *patched* 基因中的一个基因内的失活突变（该突变导致过多的 Hedgehog 信号传递）经常发生在最常见形式的皮肤癌（基底细胞癌）细胞之中，表明正常情况下 Patched 有助于保持颈部皮肤细胞增殖。

多个胁迫和促炎症反应刺激通过 NF-κB 依赖的信号传递途径起作用

NF-κB 蛋白（NF-κB protein）是潜在的基因调控蛋白，是大多数炎症反应的关键。这些反应作为对感染或伤害的一种反应发生，帮助保护动物及其细胞免于这些胁迫。然而，当过量或不合适时，炎症反应也能损害组织并导致严重的疼痛。例如，类风湿性关节炎中的关节所发生的。NF-κB 也在脊椎动物正常发育过程中胞内信号传递中起重要作用，但在这些情况下激活 NF-κB 的胞外信号并不清楚。然而，在果蝇中，遗传研究已发现激活 NF-κB 家族成员 Dorsal 的胞外和胞内蛋白。Dorsal 在规定发育中果蝇胚胎的背腹轴中起重要作用（讨论见第 21 章）。相同的胞内信号传递途径也参与防御果蝇的感染，与脊椎动物中的一样。

两个脊椎动物的细胞因子在诱导炎症反应中特别重要，即肿瘤坏死因子 α（TNF-α）和白细胞介素-1（IL-1）。两者都是由先天免疫的细胞（如巨噬细胞）在应答感染或组织损伤的过程产生的，这些促炎症反应的细胞因子结合细胞表面受体，并激活 NF-κB，NF-κB 正常情况下以无活性形式隔离在几乎所有人类细胞的胞质中。一旦活化后，NF-κB 打开 60 多个参与炎症反应的已知基因的转录。尽管 TNF-α 受体和 IL-1 受体结构上无关，但它们的作用方式非常相同。

哺乳动物中有 5 种 NF-κB 蛋白（RelA、RelB、c-Rel、NF-κB1 和 NF-κB2），它们形成不同的同二聚体和异二聚体，每一个二聚体激活其特异的一套基因。称为 **IκB** 的抑制蛋白紧密地结合二聚体，并使二聚体以无活性状态位于胞质内的大蛋白质复合体内。信号（如 TNF-α 或 IL-1）通过引发导致磷酸化，泛素化和 IκB 的随后降解的信号传递途径激活二聚体。IκB 的降解暴露出 NF-κB 蛋白上的核定位信号，然后 NF-κB 蛋白迁移到细胞核内激活特异基因的转录。IκB 的磷酸化是由一种称为 **IκB 激酶（IKK）（IκB kinase）**的特异丝氨酸/苏氨酸激酶执行的。

图 15-74 中 TNF-α 受体的例子讲解了细胞因子与其细胞表面受体结合激活 IκB 激酶机制。配体结合导致簇集的受体的胞质尾招募不同的衔接蛋白和胞质丝氨酸/苏氨酸激酶。其中一个被招募的酶被认为是一种 IκB 激酶激酶（IKKK），IKKK 直接磷酸化并激活 IκB 激酶（IKK）。

然而，并不是被招募到 TNF-α 受体胞质尾的所有信号蛋白都能促进 NF-κB 的活化。某些能引发 MAP 激酶级联反应，而其他能激活导致细胞凋亡的蛋白酶解级联反应。

到目前为止，我们已经主要介绍了动物中的细胞信号传递，介绍了一些酵母和细菌中的细胞信号传递。但是胞内信号传递对于植物来说与对于动物一样重要，尽管主要是所使用的机制和分子不同。这些我们接下来介绍。

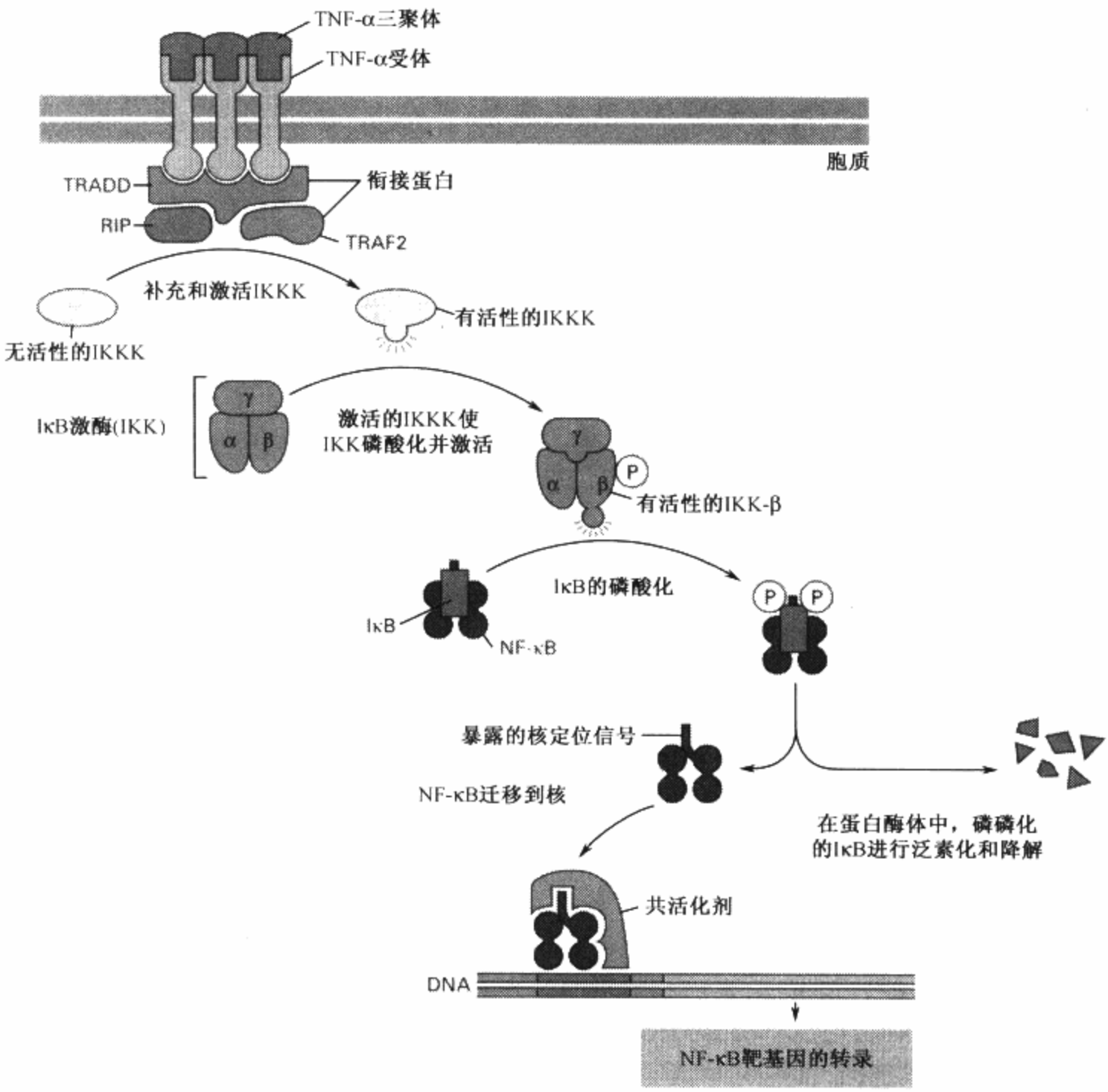


图 15-74　TNF-α 对 NF-κB 的激活

TNF-α 和它的受体都是三聚体。TNF-α 的结合导致簇集的胞质尾重排，胞质尾再招募许多胞内信号蛋白，包括受体互作蛋白激酶（RIP）和两个衔接蛋白，TNF 关联的死亡结构域蛋白（TRADD）TN 和受体关联因子 2（TRAF2）。这些蛋白质再招募并激活一个未鉴定的激酶，IκB 激酶激酶（IKKK），该激酶再磷酸化并激活 IκB 激酶（IKK）。IKK 是由两个激酶亚基（IKK-α 和 IKK-β）和一个称为 IKK-γ 的调控衔接亚基组成的异三聚体。IKK-β 再在两个丝氨酸上磷酸化 IκB，这标志该蛋白质要被泛素化和在蛋白酶体中的降解。游离的 NF-κB 上的核定位信号指导该蛋白质转运到细胞核，在细胞核内它与辅激活蛋白一起激活其靶基因的转录。除了参与炎症反应的靶基因外，NF-κB 也激活 *IκB* 基因，提供了负反馈（未标出）。RIP 的作用不清楚：尽管 RIP 对于 TNF 信号传递是必需的，但它的激酶结构域并不必需

小结

某些对动物发育特别重要的信号传递途径至少部分依赖于这些途径作用的蛋白酶解。当另一个细胞上的 Delta（或相关配体）结合 Notch 受体时，Notch 受体被切割激活；被切割的 Notch 的胞质尾迁移到细胞核，在细胞核中胞质尾激活基因转录。相比之下，在 Wnt 信号传递途径中，当分泌的 Wnt 蛋白结合起受体时，潜在基因调节蛋白 β-连环蛋白的蛋白酶解被抑

制；因此，β-连环蛋白在细胞核中积累并激活 Wnt 靶基因的转录。

果蝇中的 Hedgehog 信号传递的作用与 Wnt 信号传递很相似：当缺乏信号时，双功能的胞质基因调控蛋白 Ci 被蛋白酶解切割以形成转录抑制蛋白，该转录抑制蛋白关闭 Hedgehog 靶基因的表达。Hedgehog 与其受体的结合抑制 Ci 的蛋白酶解加工；因此，更大形式的 Ci 在细胞核中积累并激活 Hedgehog 应答基因的转录。潜在基因调控蛋白 NF-κB 介导的信号传递也依赖于蛋白酶解。正常情况下 NF-κB 被胞质内一个多蛋白质复合体中的抑制蛋白 IκB 维持在无活性状态。许多种胞外刺激（包括促炎症反应的细胞因子）引发磷酸化级联反应，该级联反应最后磷酸化 IκB，标记 IκB 以降解；这使游离的 NF-κB 能进入细胞核，并激活其靶基因的转录。

植物中的信号传递

与动物一样，植物细胞不断地彼此交流信息。植物细胞之间相互交流信息从而协调它们在对光、黑暗和指导植物生长周期（生长、开花和结果）的温度的应答中的活动。植物细胞也相互交流信息以协调根、茎和叶的活动。在最后一节，我们介绍植物细胞如何相互传递信号以及它们如何对光做出应答。目前对蛋白质植物细胞通讯的受体和胞内信号传递机制了解甚少。我们在第 21 章介绍植物发育的一些细节。

多细胞性和细胞通讯在植物和动物中独立进化

虽然植物和动物都是真核生物，但它们分开进化的历史超过 10 亿年。它们最后的共同祖先是具有线粒体但没有叶绿体的单细胞核生物。在植物和动物分化后，植物谱系获得了叶绿体。最早的多细胞动物和植物的化石距今几乎 6 亿年。因此，植物和动物似乎独立进化获得多细胞性，每一种是在 16 亿和 6 亿年前的某个时候从不同的单细胞真核生物开始进化的（图 15-75）。

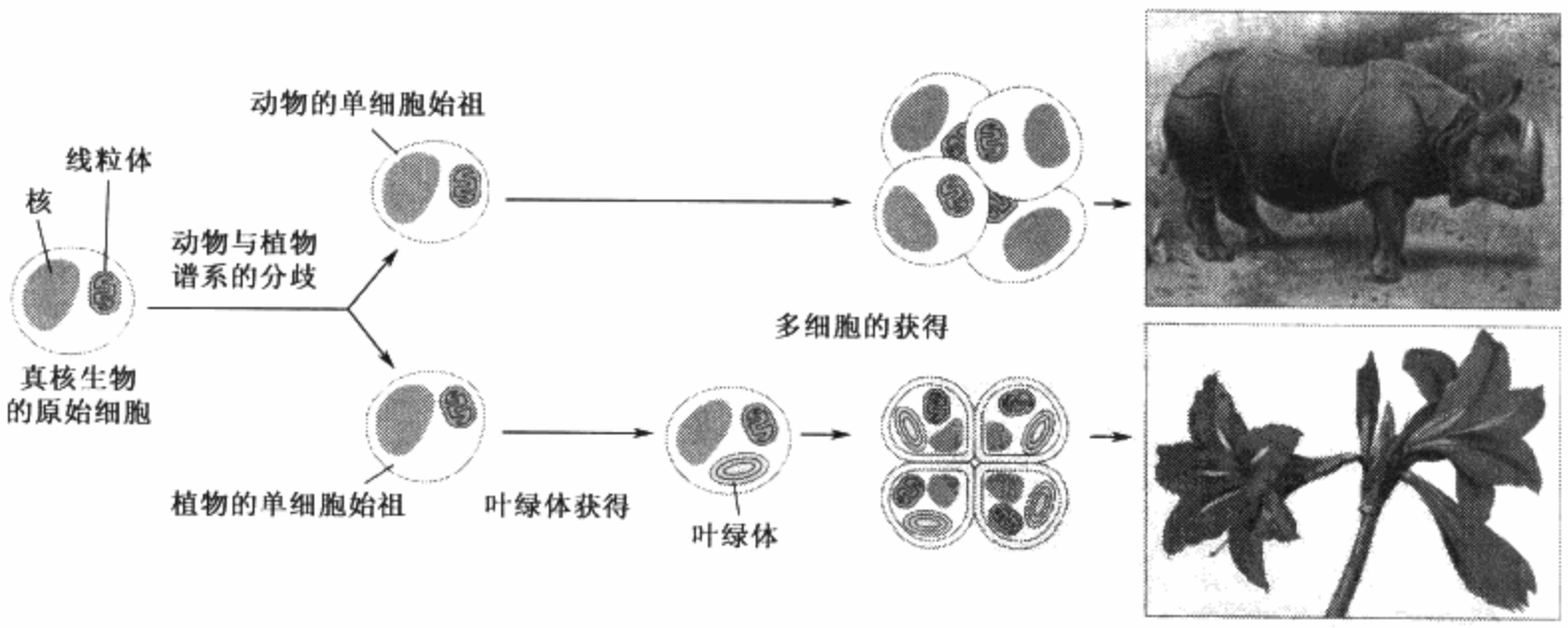


图 15-75　从一个共同的单细胞真核祖先而来的植物和动物谱系的推测分歧

在两个谱系分歧后植物谱系获得叶绿体。两个谱系独立产生多细胞机体——植物和动物（经 John Innes Foundation. 许可）

如果多细胞性在植物和动物中独立进化，细胞通讯所使用的分子和机制将独立进化，并

预期不同。然而，一些程度的相似是意料中的，因为植物和动物基因是从植物和动物的最后共同祖先的单细胞真核生物所含有的一套基因分化而来。一氧化氮和 Ca^{2+} 被广泛应用在植物和动物中的信号传递。然而，因为拟南芥（一种被广泛研究的开花小植物）基因组已被完全测序，我们知道拟南芥中没有 Wnt、Hedgehog、Notch、Jak/STAT、TGF-β、Ras 以及核受体家族的同源物。相似地，cAMP 确实不参与植物中胞内信号传递，但 cGMP 参与。

多数已知的关于参与植物信号传递的分子机制来自对拟南芥的遗传研究。尽管植物细胞通讯中所用的特异分子经常不同于动物中所用的分子，但普遍原则经常是非常相似。例如，酶联细胞表面受体被用于这两个谱系，我们接下来介绍酶联细胞表面受体。

受体丝氨酸/苏氨酸激酶在植物中行使细胞表面受体功能

和动物一样，植物也广泛使用细胞表面受体。动物中大多数细胞表面受体是 G 蛋白偶联的，而迄今在植物中发现的细胞表面受体是酶偶联的。此外，动物中最大的酶联受体家族是受体酪氨酸激酶，而这种类型受体在植物中非常少见，即使植物含有许多胞质酪氨酸激酶，并且酪氨酸磷酸化与去磷酸化在植物细胞信号转导中起重要作用。相反，植物似乎依赖于许多不同的跨膜受体丝氨酸/苏氨酸激酶，该激酶不同于动物所使用的受体类型。然而，与动物受体一样，植物受体含有一个典型的丝氨酸/苏氨酸激酶胞质结构域和胞外配体结合结构域。目前所鉴定的大多数类型具有串联的富含亮氨酸重复（图 15-76），因此称这些受体为**富含亮氨酸重复（LRR）蛋白（leucine-rich repeat（LRR）protein）**。

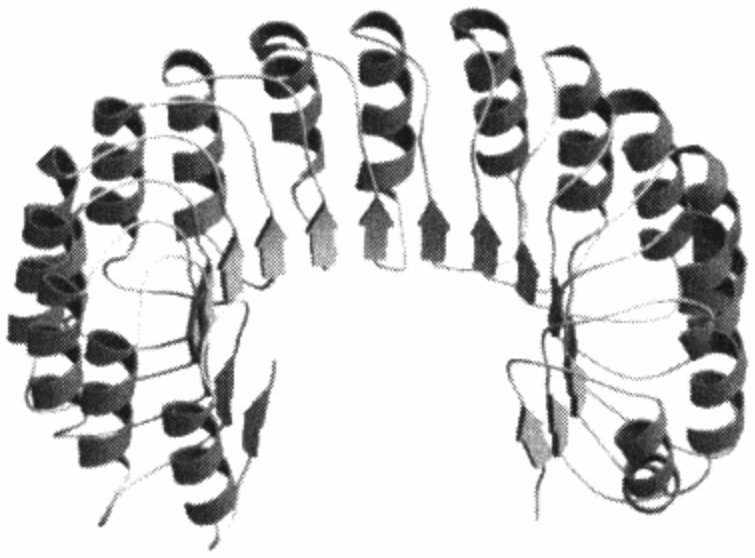


图 15-76　富含亮氨酸的重复单位的三维结构，与 LRR 丝氨酸/苏氨酸受体激酶中已发现的相似

（经 David Lawson. 许可）

拟南芥基因组编码有大约 80 个 LRR 受体激酶，其中研究最清楚的一个是 CLAVATA 1（CLV1）。该蛋白质最初是通过遗传学研究发现的。失活该蛋白质的突变导致产生过多花器官的花以及茎端分生组织和花分生组织的逐渐扩大。分生组织是指自我更新的干细胞群，这些干细胞产生形成茎、叶和花的细胞（讨论见第 21 章）。该受体的胞外信号分子被认为是称为 CLV3 的小蛋白质，CLV3 由周围细胞分泌。CLV3 与其受体 CLV1 的结合抑制分生组织的生长，或者是通过抑制分生组织的细胞分裂，更可能的是通过促进细胞分裂［图 15-77（A）］。目前基本不知道从 CLV1 到细胞应答的胞内信号传递途径，但该途径含有一个抑制 CLV1 信号转导的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶，还含有一个 Rho 家族的小 GTP 结合蛋白和与同源域蛋白无关的核基因调控蛋白。失活该基因调控蛋白的突变与失活 CLV1 的突变效应相反：茎端分生组织的细胞分裂大大降低，而且产生具有很少器官的花。因此，CLV1 激活的胞内信号传递途径被认为是通过抑制细胞分化的基因调控蛋白从而促进细胞分化［图 15-77（B）］。

另一个不同的称为 BRI1 的 LRR 受体激酶在拟南芥中充当甾类激素的细胞表面受体。植物合成一组称为油菜素内酯的甾体，因为它们最初是在芥菜科 Brassicaceae 中发现的，该芥菜科包括拟南芥。在发育过程中，这些植物生长调节子促进细胞扩大和帮助植物介导对黑暗的应答。缺失 BRI1 受体激酶的突变植物对油菜素内酯不敏感。正常情况下，在黑暗环境生

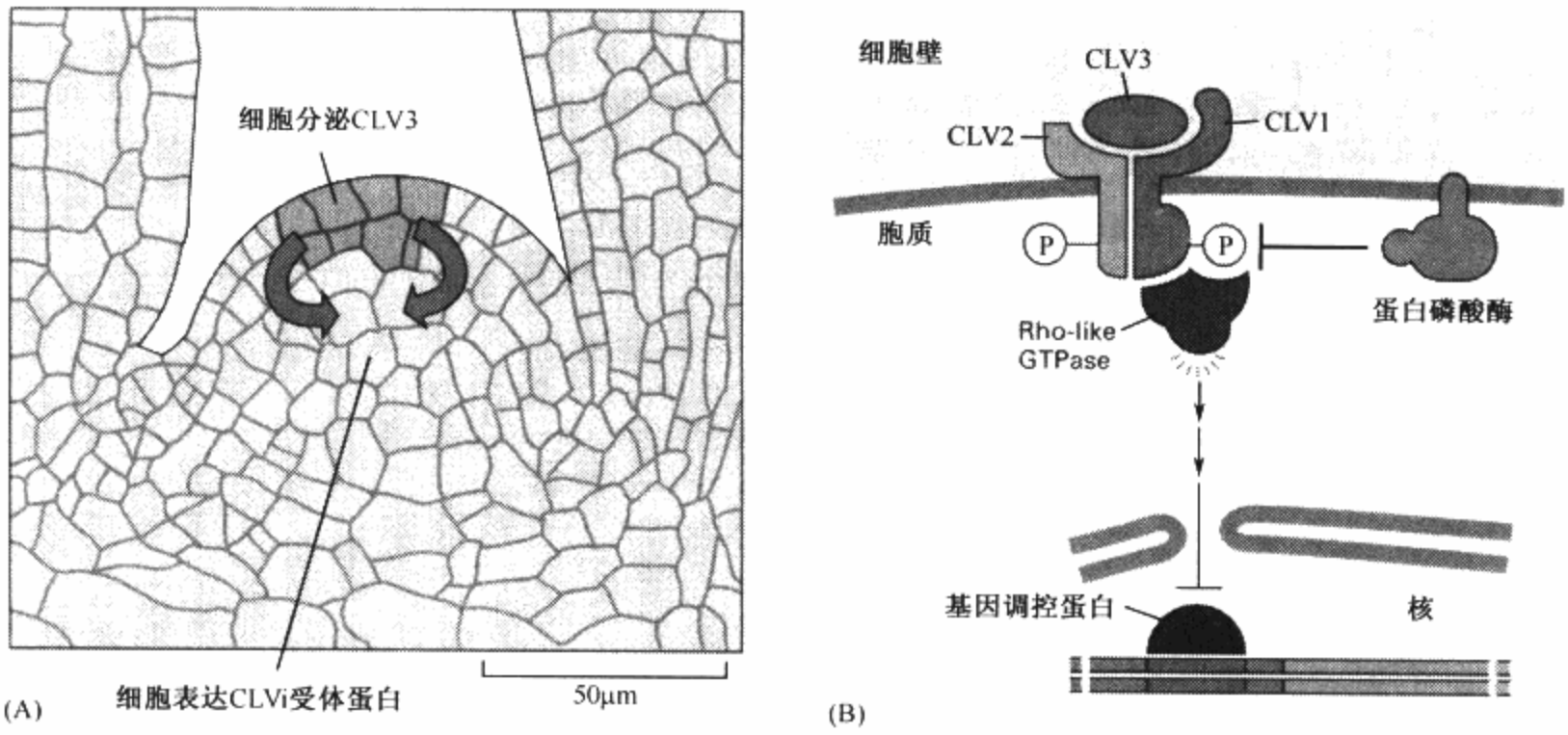


图 15-77　茎端分生组织中 CLV1 受体丝氨酸/苏氨酸激酶对细胞增殖和（或）细胞分化的调控的假设模型

（A）分生组织外层的细胞分泌 CLV3 蛋白，CLV3 与相邻的更接近中间区域分生组织内的靶细胞上的 CLV1 受体结合，可能促进靶细胞的分化。（B）由 CLV3 的结合激活的某些胞内信号传递途径。CLV 受体蛋白被认为是同二聚体或异二聚体，磷酸化其自身上的丝氨酸和苏氨酸，从而激活受体并导致 Rho 样 GTP 酶的激活。这点以后的信号传递途径不清楚，但它导致细胞核内基因调控蛋白的抑制，从而阻止抑制分化的基因的转录。磷酸酶去磷酸化受体从而负调控信号传递途径

长的拟南芥是白色的和瘦长的，这是油菜素内酯的信号传递的结果；而在没有油菜素内酯的信号传递的情况下，拟南芥是绿色的，好像是在光中生长的，成熟的植株严重矮化。与植物中其他已知的 LRR 受体激酶一样，从受体到细胞应答的信号传递途径本质仍然不清楚。

LRR 受体激酶是植物中许多种跨膜受体丝氨酸/苏氨酸激酶的一种。至少另外有 6 个家族，每个家族具自己典型的胞外结构域。例如，凝集素受体激酶具有 6 个结合糖类信号分子的胞外结构域。拟南芥基因组编码 300 多个受体丝氨酸/苏氨酸激酶，该激酶家族是植物中已知的最大激酶家族。该家族的许多激酶参与对病原的防御反应。

乙烯激活二元信号传递途径

各种生长调节子（growth regulator，也称植物激素）有助于协调植物发育。生长调节子包括乙烯、生长激素、细胞分裂素、赤霉素和脱落酸。生长调节子都是由大多数植物细胞合成的小分子。这些小分子可以自由扩散通过细胞壁，它们可以局部作用于也可以运送以影响更远的细胞。每种生长调节子可以具有多种作用。其特定作用取决于其他生长调节子是否在作用、环境条件、植物营养状况以及靶细胞的反应性。

乙烯（ethylene）是一个重要的例子。这种气体小分子能以各种方式影响植物发育，包括促进果实成熟、叶子脱落和植物老化。乙烯也作为胁迫信号以应答伤害、感染、水害等。例如，当萌发的幼苗遇到障碍（如土壤里的一块石子）时，幼苗通过三种方式对该障碍做出应答。第一，它使其茎变粗，这可以对该障碍施加更大的力。第二，通过增加特异钩结构的曲率来保护茎尖。第三，它降低茎远离重力方向生长的趋势以避免障碍物。这种“三重反应”是由乙烯控制的［图 15-78（C），（D）］。

植物有许多乙烯受体，这些受体都是结构相关的。它们是三聚体跨膜蛋白，该蛋白质被认为行使组氨酸激酶功能。乙烯受体具有一个胞外结构域，该结构域含有一个结合乙烯的铜

原子；还有一个胞内组氨酸激酶类似结构域。以一种与前面介绍的参与细菌趋化性的二元信号传递途径类似的方式，当激酶有活性时，激酶磷酸化自身的组氨酸，然后将磷酸转移到受体的另一个结构域上的天冬氨酸。在细菌趋化现象中，吸引剂的结合失活了受体。与之相似，乙烯的结合失活了乙烯受体，抑制了激酶结构域以及由激酶引发出的下游信号传递途径。当受体处于未结合的活性状态时，受体激活 MAP 激酶信号传递模件的第一个组分（图 15-56）。该 MAP 激酶级联反应的活化导致核内基因调控蛋白的失活，而这些调控蛋白的失活促进乙烯应答基因的转录。乙烯与受体的结合失活了该信号传递途径，因而打开这些基因的表达［图 15-78（A），（B）］。

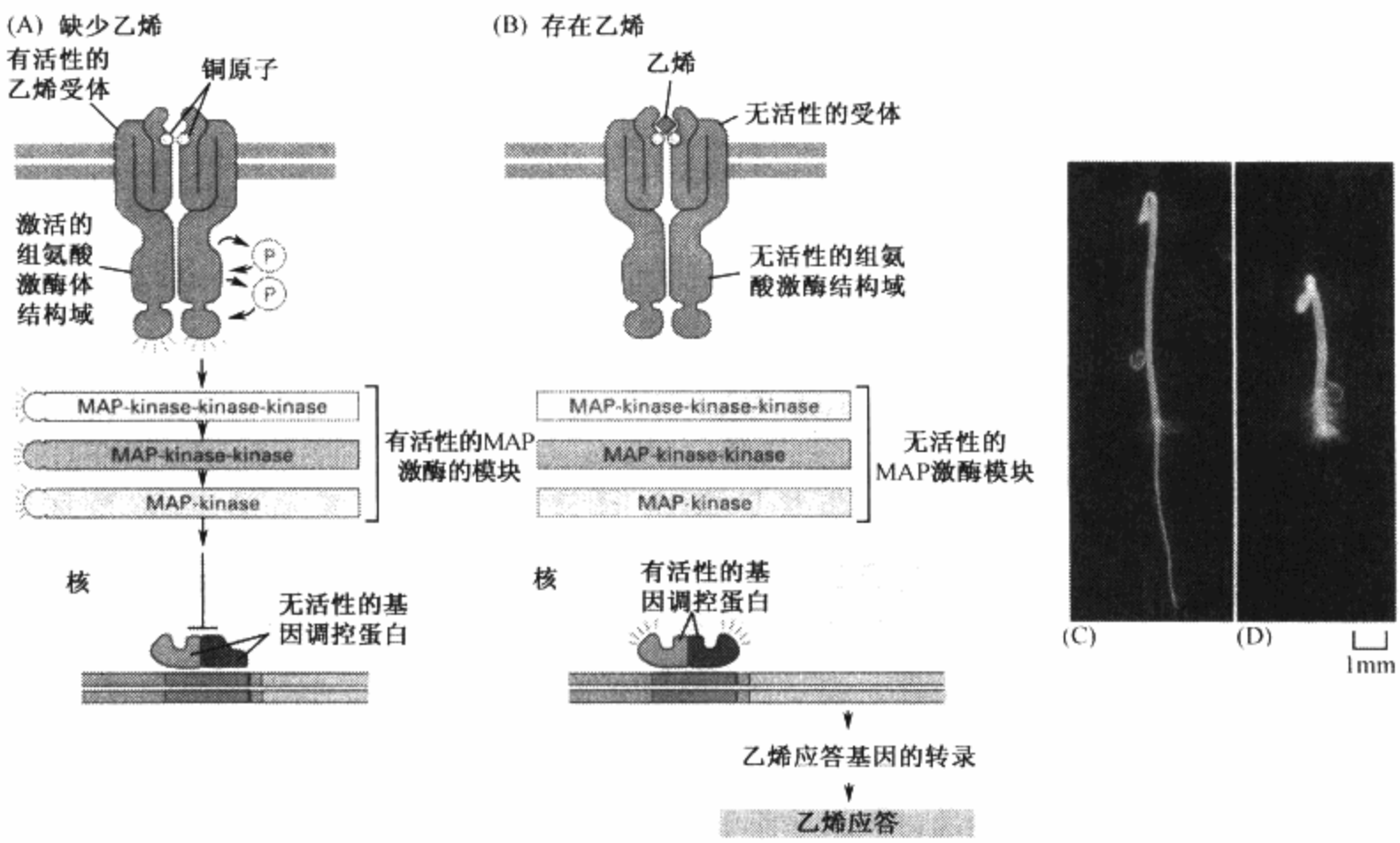


图 15-78　乙烯二元信号传递途径的目前观点

（A）在缺乏乙烯时，受体和 MAP 激酶模件是有活性，导致细胞核内基因调控蛋白的抑制，该基因调控蛋白负责乙烯应答基因的转录。（B）在存在乙烯时，受体和 MAP 激酶模件失活，所以乙烯应答基因被转录（C）和（D）。当萌芽种子的生长茎遇到地下障碍时发生乙烯介导的“三重反应”。在这一相遇后（D），茎变粗，保护钩（顶端）增加其曲率以保护茎尖［（C）和（D），经 of Melanie Webb 许可］

二元信号转导系统在细菌、真菌以及植物中行使功能，但明显在动物中不起作用。为什么动物放弃这种信号传递方式仍然不清楚。

植物发育在很大程度上受环境条件的影响。与动物不一样，当环境变得不利时，植物不能移动；植物不得不适应，否则就死亡。最重要的环境影响是光，光是植物的能量来源，在植物整个生命周期（从萌发、幼苗发育、到开花和衰老）起主要作用。正如我们现在介绍的，植物进化出一大套光敏感蛋白以监控光的数量、质量、方向和持续时间。

光敏色素检测红光，隐花色素检测蓝光

植物和动物都利用许多种光应答蛋白以感知不同波长的光。植物中这些蛋白质通常称为光受体。然而，因为术语光受体也用作动物视网膜中的光敏细胞，我们将使用术语光蛋白。所有光蛋白通过一个共价连接的吸光的生色团来感受光，生色团在对光的应答过程中改变其

形状，然后引发蛋白质构象的改变。动物使用一些植物使用的相同光蛋白家族。最广泛研究的动物光蛋白是视紫红质。视紫红质是膜结合的 G 蛋白偶联蛋白，调控视网膜内光敏细胞的离子通道，这些我们已有介绍。

最有名的植物光蛋白是**光敏色素（phytochrome）**，它存在于所有植物和某些蓝藻中。光敏色素是两聚体的胞质丝氨酸/苏氨酸激酶。该激酶对红光和远红光的反应是不同的和可逆的：红光通常激活光敏色素的激酶活性，而远红光失活光敏色素。当被红光激活后，光敏色素被认为酸磷化自身，然后磷酸化细胞中一个或多个其他蛋白质。在某些光反应中，激活的光敏色素迁移到细胞核中，与基因调控蛋白相互作用从而改变基因转录（图 15-79）。在其他情况下，活化的光敏色素激活胞质中的基因调控蛋白，该调控蛋白再迁移到细胞核调控基因转录。在还有其他的情况下，光蛋白诱发胞质中的信号传递途径。该信号传递途径在不涉及细胞核的情况下改变细胞的行为。

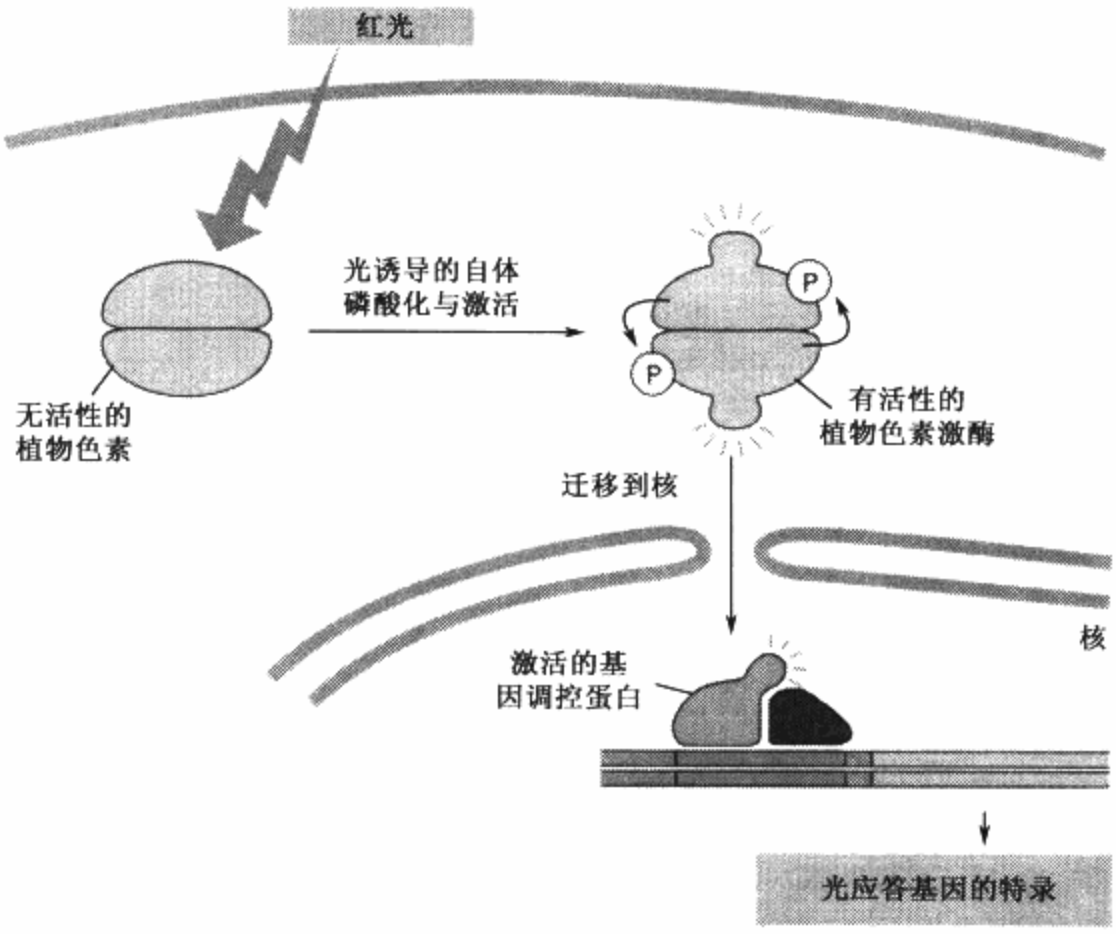


图 15-79　光敏色素介导植物细胞中光反应的一种方式的目前观点

当被光激活时，二聚体的光敏色素磷酸化其自身，然后迁移到细胞核，在细胞核激活基因调控蛋白，从而激活特异基因的转录

尽管光敏色素具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性，其部分结构和参与细菌趋化性的组氨酸激酶相似。该发现表明植物光敏色素最初起源于细菌组氨酸激酶，只是在以后的进化过程中改变它们的底物特异性（从组氨酸到丝氨酸和苏氨酸）。

植物采用两种光蛋白（趋光素和隐花色素）感受蓝光。**趋光素（phototropin）**与细胞膜结合，它部分地解释了趋光性（即植物向光生长的趋势）。趋光性是通过定向的细胞伸长引起的，而细胞调节子生长激素促进细胞延伸，但不知道趋光素和生长激素之间的联系。

隐花色素（cryptochrome）是对蓝光敏感的黄素蛋白。它们与称为光裂合酶的蓝光敏感酶结构相关，光裂合酶参与除哺乳动物以外的所有生物中的紫外线诱导的 DNA 损伤的修复。与光敏素不一样，隐花色素也在动物中发现。隐花色素并不具有 DNA 修复活性，但它们被认为是从光裂合酶进化而来。

在本章我们介绍了胞外信号如何影响细胞行为。这些信号的一个重要的胞内靶标是细胞骨架，细胞骨架决定细胞形状以及负责细胞运动，我们将在下一章中介绍细胞骨架。

小结

植物和动物被认为独立进化多细胞性和细胞通讯机制，每一个从来自共同的单细胞真核祖先的不同的单细胞真核生物开始进化。因此，动物和植物细胞之间的信号传递机制具有相似性和差别并不令人惊讶。例如，动物主要依赖于G蛋白偶联的表面受体，而植物主要依赖于受体丝氨酸/苏氨酸激酶类型的酶联受体，特别是具有胞外的富含亮氨酸的重复单位的受体丝氨酸/苏氨酸激酶。许多生长调节子（包括乙烯）帮助协调植物发育。乙烯通过二元信号传递途径中的受体组氨酸激酶起作用，该信号传递途径与细菌趋化性中所用的途径相似。光在调控植物发育中起重要的作用。这些光反应是由许多种光敏感的光蛋白介导的，光蛋白包括对红光敏感的光敏色素，以及对蓝光敏感的隐花色素和趋光素。

参考文献

一般文献

Ari S (ed) (1999) Introduction to Cellular Signal Transduction. New York: Birkhauser.

Heldin C-H & Purton M (eds) (1996) Signal Transduction. Cheltenham, UK: Nelson Thornes.

Krauss G (1999) Biochemistry of Signal Transduction and Regulation. New York: John Wiley & Sons.

General Principles of Cell Communication

Cohen P (1992) Signal integration at the level of protein kinases, protein phosphatases and their substrates. *Trends Biochem. Sci.* 17, 408–413.

Forman BM & Evans RM (1995) Nuclear hormone receptors activate direct, inverted, and everted repeats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 761, 29–37.

Gurdon JB, Lemaire P & Kato K (1993) Community effects and related phenomena in development. *Cell* 75, 831–834.

Murad F (1998) Nitric oxide signaling: would you believe that a simple free radical could be a second messenger, autacoid, paracrine substance, neurotransmitter, and hormone? *Recent Prog. Horm. Res.* 53, 43–59; discussion 59–60.

Pawson T & Nash P (2000) Protein–protein interactions define specificity in signal transduction. *Genes Dev.* 14, 1027–1047.

Pawson T & Scott JD (1997) Signalling through scaffold, anchoring, and adaptor proteins. *Science* 278, 2075–2080.

Signaling Through G-protein-linked Cell-surface Receptors

Baylor D (1996) How photons start vision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 560–565.

Berridge MJ (1997) Elementary and global aspects of calcium signalling. *J. Physiol.* (Lond). 499, 291–306.

Bourne HR (1997) How receptors talk to trimeric G proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 134–142.

Buck LB (2000) The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell* 100, 611–618.

Chin D & Means AR (2000) Calmodulin: a prototypical calcium sensor. *Trends Cell Biol.* 10, 322–328.

Cohen PT (1997) Novel protein serine/threonine phosphatases: variety is the spice of life. *Trends Biochem. Sci.* 22, 245–251.

Collins S, Caron MG & Lefkowitz RJ (1992) From ligand binding to gene expression: new insights into the regulation of G-protein-coupled receptors. *Trends Biochem. Sci.* 17, 37–39.

Gilman AG (1995) Nobel Lecture. G proteins and regulation of adenylyl cyclase. *Biosci. Rep.* 15, 65–97.

Irvine RF (1992) Inositol lipids in cell signalling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4, 212–219.

Koninck PD & Schulman H (1998) Sensitivity of CaM kinase II to the frequency of Ca2+ oscillations. *Science* 279, 227–229.

Montminy M (1997) Transcriptional regulation by cyclic AMP. *Annu. Rev. Biochem.* 66, 807–822.

Nishizuka Y (1992) Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 258, 607–614.

Pitcher JA, Freedman NJ & Lefkowitz RJ (1998) G protein-coupled receptor kinases. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 653–692.

Signaling Through Enzyme-linked Cell-surface Receptors

Darnell JE, Jr, Kerr IM & Stark GR (1994) Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 264, 1415–1421.

Downward J (1996) Control of ras activation. *Cancer Surv.* 27, 87–100.

Downward J (1998) Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 262–267.

Falke JJ, Bass RB, Butler SL et al. (1997) The two-component signaling pathway of bacterial chemotaxis: a molecular view of signal transduction by receptors, kinases, and adaptation enzymes. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 457–512.

Gale NW & Yancopoulos GD (1997) Ephrins and their receptors: a repulsive topic? *Cell Tissue Res.* 290, 227–241.

Leevers SJ, Vanhaesebroeck B & Waterfield MD (1999) Signalling through phosphoinositide 3-kinases: the lipids take centre stage. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 219–225.

Massagué J (1998) TGF-β signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 753–791.

Neel BG & Tonks NK (1997) Protein tyrosine phosphatases in signal transduction. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 192–204.

Pawson T (1995) Protein modules and signalling networks. *Nature* 373, 573–580.

Potter LR & Hunter T (2001) Guanylyl cyclase-linked natriuretic peptide receptors: structure and regulation. *J. Biol. Chem.* 276, 6057–6060.

Schlessinger J (2000) Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 103, 211–225.

Thomas SM & Brugge JS (1997) Cellular functions regulated by Src family kinases. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 513–609.

Widmann C, Gibson S, Jarpe B & Johnson GI (1999) Mitogen-activation protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol. Rev.* 79, 143–180.

Signaling Pathways That Depend on Regulated Proteolysis

Chan YM & Jan YN (1998) Roles for proteolysis and trafficking in notch maturation and signal transduction. *Cell* 94, 423–426.

Ghosh S, May M & Kopp E (1998) NF-κB and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 16, 225–260.

Hisken J & Behrens J (2000) The Wnt signalling pathway. *J. Cell Sci.* 113, 3545–3546.

Ingham PW (1998) Transducing Hedgehog: the story so far. *EMBO J.* 17, 3505–3511.

Signaling in Plants

Ahmad M (1999) Seeing the world in red and blue: insight into plant vision and photoreceptors. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 230–235.

Buchanan SG & Gay NJ (1996) Structural and functional diversity in the leucine-rich repeat family of proteins. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 65, 1–44.

Chang C & Shockey JA (1999) The ethylene-response pathway: signal perception to gene regulation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 352–358.

Iten M, Hoffmann T & Grill E (1999) Receptors and signalling components of plant hormones. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 19, 41–58.

Nagy F & Schäfer E (2000) Nuclear and cytosolic events of light-induced, phytochrome-regulated signaling in higher plants. *EMBO J.* 19, 157–163.

Schumacher K & Chory J (2000) Brassinosteroid signal transduction: still casting the actors. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 79–84.

Shiu SH & Bleecker AB (2001) Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10763–10768.

16 细胞骨架

骨架纤维的自组装和动态结构
细胞对骨架纤维的调控机制
分子马达
细胞骨架和细胞行为

细胞在空间上组织它们自己，并且机械地与它们周围的环境发生相互作用。它们不仅具有特定的形状和高度复杂的内部结构，而且还能为适应功能的需要，如生长、分裂以及环境的变化而改变形状，重新安排其内部细胞器的位置。某些具有特殊功能的细胞还能自主运动。真核生物细胞中，所有这些空间上和机械上的功能已经发展到一个很高的水平了，它们依赖于一个惊人的系统，即**细胞骨架（cytoskeleton）**（图 16-1）。

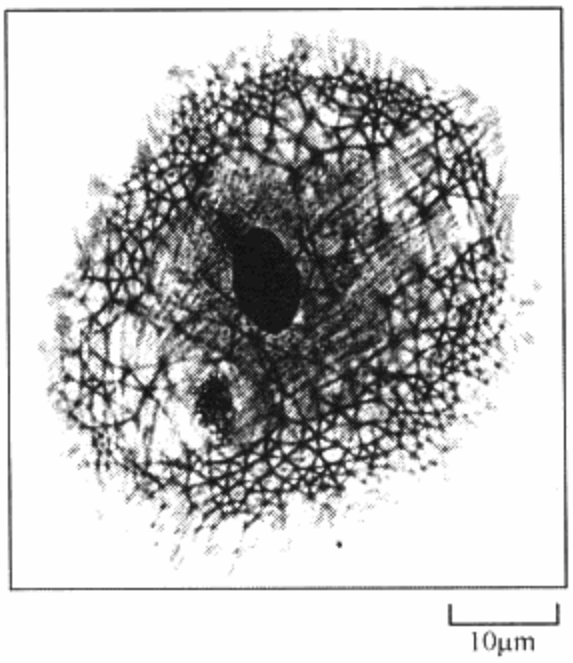


图 16-1　细胞骨架
单个培养细胞经固定后，用考马斯亮蓝染色。图中可看出不同类型的骨架纤维伸展在整个细胞中（经 Colin Smith 许可）

在有丝分裂时期，细胞骨架拉动染色体使之分裂并分配到两个子细胞中。它驱动和引导着细胞内细胞器的运动，将原料从细胞的一部分运输到另一部分，支持着易碎的原生质膜并提供机械连接，这样使细胞在环境发生变化的时候，能够承受拉力和张力而不至于破裂。它能使一些细胞游动，如精子，还能使像成纤维细胞、白血细胞等一类的细胞在表面爬行。实验证明，它为肌肉细胞收缩和神经细胞轴突和树突的延伸提供了机械力。它们还指导着植物细胞壁的生长，并决定了真核细胞形状的多样化。

细胞骨架的多种功能建立在三个蛋白质家族分子的行为之上。这三个家族的蛋白质分子组装形成了三种类型的丝。每一种类型的丝都有自己的特性和动力学特征，但它们有着共同的基本原则。这个原则为我们理解细胞骨架如何工作提供了基础。

在这一章里，我们首先描述三种类型的丝，它们组装和解聚的原则，以及它们各自的特性。然后我们描述其他蛋白质和这三种丝如何通过相互作用，使细胞能够建立和维持其内部结构顺序，形成或重建细胞表面，将细胞器定向移动，并且，在需要的时候，将细胞本身移动到一个新的位置上。而细胞分裂过程中细胞骨架的动态性和结构改变将在第 18 章中单独讨论。

骨架纤维的自组装和动态结构

三种类型的骨架纤维在许多真核细胞中都是相似的，它们是细胞空间组织的基础。中间纤维（intermediate filament）提供机械强度并抵抗剪应力。微管决定了有膜包被的细胞器的位置，并且定向了细胞内的运输。肌动蛋白丝（actin flilament）决定了细胞表面的形状，而且是整个细胞运动所必需的（专题 16-1）。但这些骨架纤维自身是无效的。它们作用的发挥依

赖于大量的辅助蛋白（accessory protein）。这一系列的辅助蛋白负责丝间或丝与其他细胞组分如质膜之间的连接，同时，也是骨架纤维在特定位点组装所必需的。这些蛋白质包括动力蛋白（motor protein），它能将细胞器或丝沿着丝移动。

细胞骨架系统是动态的、可变的、有组织的。它更像蚂蚁的踪迹而不是洲际高速公路。单看蚂蚁的一条路线，从蚁巢延伸到发现美味野餐的地方，它可能持续数个小时。然而不同蚂蚁在这个过程中留下不同的踪迹。如果任何蚂蚁侦察员发现了新的更好的食物源，或者是发现食物的蚂蚁已将食物清除并离开了，则蚂蚁群内部寻找食物的动态结构将迅速地重新安排，以适应情况的变化。同样，大型的骨架结构也能根据需要维持一个状态或迅速改变。对于细胞整个生命历程而言，骨架结构可以维持一个很长的时间，也可以在不到 1s 内迅速改变。构成这个结构的独特的高分子复合物始终处于动态变化当中。然而，就像蚂蚁踪迹具有可变性一样，当条件改变时，细胞内骨架结构的重排几乎不需要额外的力量。本章中，我们将讨论细胞骨架结构的装配、动态性以及它对外界变化的迅速应答。

真核细胞通过利用三种基本的丝构建了庞大的细胞骨架结构，并调控着其动态行为和结构的变化。专题 16-1 中的显微照相图片显示了一些细胞骨架结构。微管处于分裂间期的细胞中时，从中央处发散呈星状，而处于细胞分裂时，它们迅速重排形成有极性的有丝分裂纺锤体（mitotic spindle）。它们还形成了细胞表面的运动器官：纤毛（cilia）或鞭毛（flagella），或形成从神经轴突向下运输养料的致密定位光纤束。肌动蛋白丝，形成了各种类型的细胞表面突起，其中一些结构是动态的，如板状伪足（lamellipodia）、丝状伪足（filopodia），细胞利用这些伪足勘探环境并移动自身。另外一些则是稳定的结构，例如，内耳毛细胞表面斜置的用来应答声音的硬纤毛（stereocilia）的微管束调解装置。在细胞内，肌动蛋白丝也可以形成动态可变的或稳定的结构。例如，收缩环（contractile ring）在胞质分裂过程中通过该结构将细胞一分为二，更多的稳定结构则允许细胞在基本培养基中膨胀，或使肌肉细胞收缩。中间纤维在细胞核中位于核膜的内表面，它在内表面形成一个保护壳，以保护细胞的 DNA。在胞质溶胶中，它们能够扭曲并形成强有力的绞索，以使上皮细胞成层，或使神经细胞的轴突延展伸长，同时保持轴突结构的牢固，或帮助我们形成坚韧的附属物，如头发和指甲。

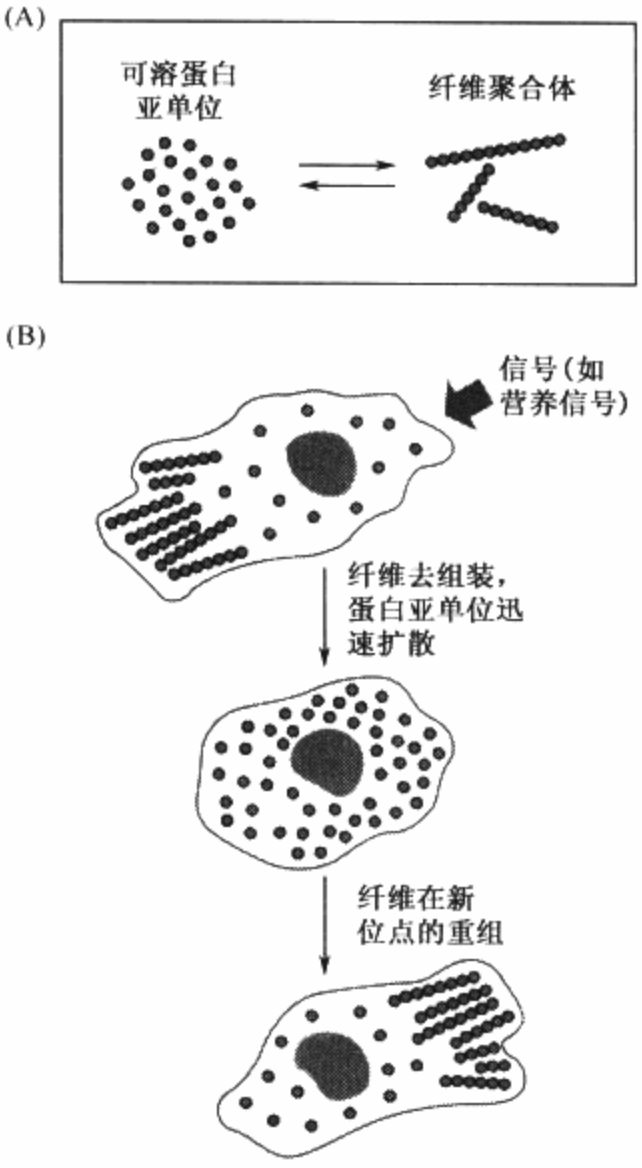


图 16-2　细胞骨架与细胞形状的改变
蛋白质纤维由小的蛋白质亚单位构成，因此，细胞可以通过调控纤维的组装与去组装来改变细胞骨架的形状。（A）蛋白质亚单位形成纤维的过程。（B）细胞应答胞外信号，迅速重新组织骨架纤维的过程

各种类型的骨架纤维由蛋白质亚单位构成

骨架结构通常贯穿于一个细胞，并从一个细胞末端延伸到其他细胞，横跨达数十或数百微米。但通常构成细胞骨架的一个蛋白质亚单位仅有几个纳米。细胞通过将大量蛋白质亚单位重复组装构成了巨大的细胞骨架结构，就像用砖盖摩天大楼一样。这些小的蛋白质亚单位可以迅速分散于胞质中，而经它们组装生成的骨架纤维就不能。利用这种特性，细胞就能够迅速重新组织结构，从一头去组装，然后在远处的其他

位点重新组装(图 16-2)。

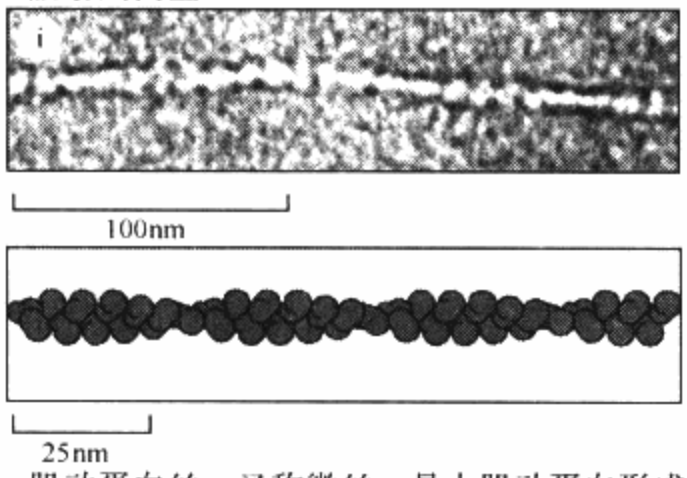
中间纤维由长条形的丝蛋白亚单位构成，肌动蛋白丝和微管都是由致密的球蛋白亚单位构成的。其中，构成肌动蛋白丝的蛋白质亚单位称为肌动蛋白亚单位（actin subunit），而构成微管的蛋白亚单位称为微管蛋白亚单位（tubulin subunit）。三种骨架纤维都呈螺旋状，它们都是由自己的亚单位通过首尾相接、相邻叠加的方式形成的（图 3-27）。由于亚基的结构和亚基间相互作用力强度的不同，因而形成的三种骨架纤维的稳定性和机械性质差异迥然。

许多生物聚合体（包括 DNA、RNA 和蛋白质）都是由亚基通过共价键连接而形成的。但是这三种骨架纤维则由亚基通过较弱的非共价键连接而形成的。这种非共价键的连接使它们不用经过共价键的形成与断裂，而能迅速的完成组装和去组装。

在细胞中，成千上万的与细胞骨架交联的辅助蛋白调控着骨架纤维的空间分布和结构上的动态变化。这些辅助蛋白通过绑定在骨架纤维或它们的亚单位上，确定骨架纤维新的装配位点，改变丝的动力学特征使其组装或去组装，储存能量，将骨架纤维连接到另外的骨架纤维上或连接到其他的细胞器或质膜上。同时，辅助蛋白对骨架纤维的作用又受到胞外或胞内信号的调控。例如，细胞周期过程中，信号引发骨架纤维发生结构上的巨大改变。总之，通过信号和辅助蛋白的共调控，真核细胞被赋予了坚韧、可运动的特性。

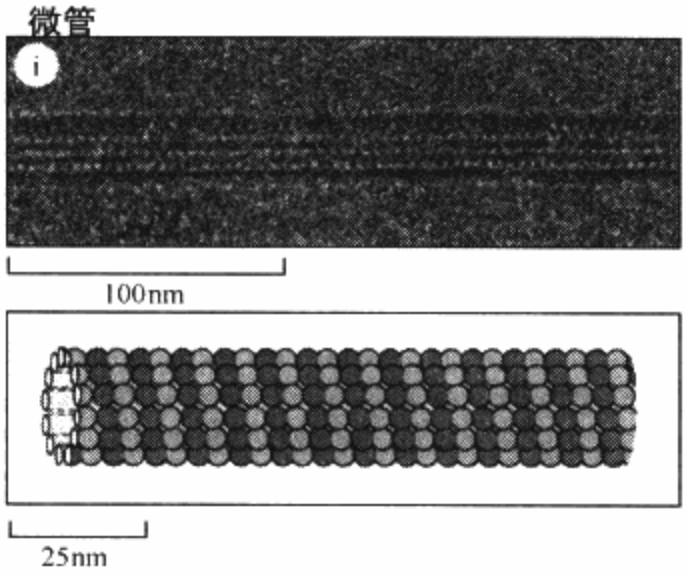
专题 16-1　形成骨架的三种蛋白质纤维

肌动蛋白丝



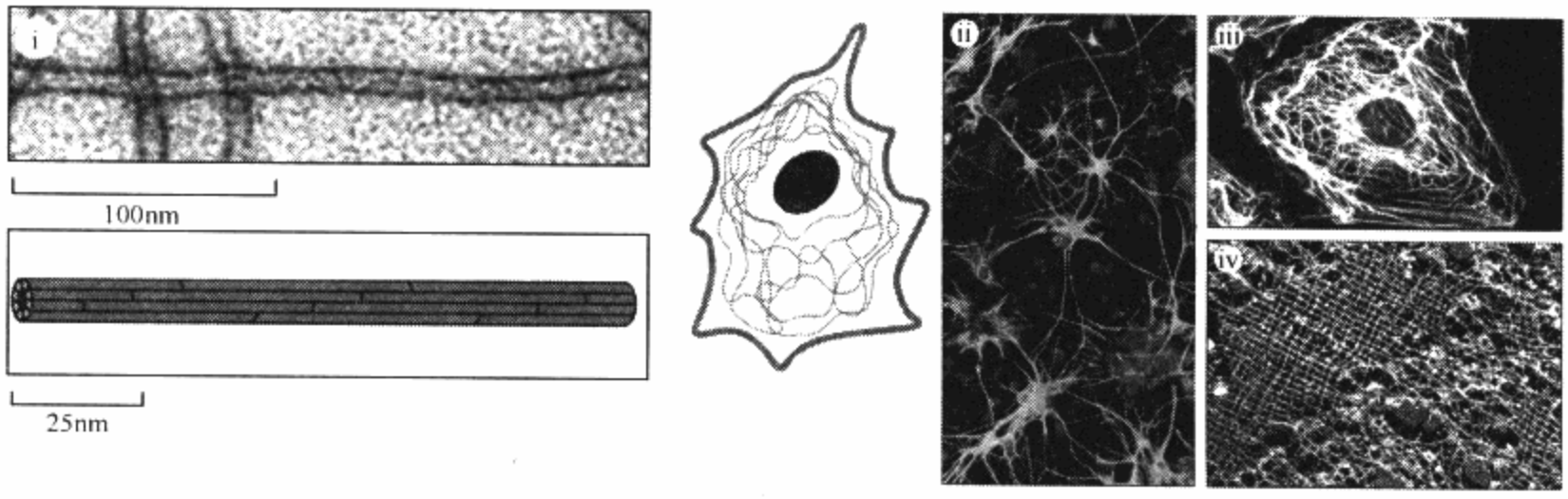
肌动蛋白丝，又称微丝，是由肌动蛋白形成的双螺旋结构，直径 5～9nm，坚韧、易弯曲。它们组织在一起形成多种线形束状结构，或二维的网络结构，或三位的立体交联结构。肌动蛋白丝散布在整个细胞中，但主要集中于质膜下方的皮质处。

微管



微管，由微管蛋白构成，呈长的、中空的圆柱状纤维，外直径 25nm，硬度比肌动蛋白丝高很多。图中所示为典型的微管，呈长直线形，仅一头与一个微管组织中心（MTOC）连接，称为中心体。

中间纤维



中间纤维，直径 10nm 左右的绳状的纤维，由中间纤维蛋白组成。中间纤维蛋白本身又是一个大的同源蛋白质家族。其中的一种中间纤维蛋白形成了核内核膜下方的核纤层。在上皮组织中，它们穿过一个细胞的细胞质并连接到另一个细胞上，从而使整个上皮组织更加坚固。

多个原纤维形成纤维的组织方式具有优越性

一个自由的亚单位连接到一个含有 N 个亚单位纤维的末端上形成一个长度为 $N+1$ 的纤维，一般认为，这种形成纤维的连接方式是一种简单的缔合反应。新加上的亚单位的末端为下一个亚单位提供了连接位点。然而，这种简单的缔合不能构建成活细胞坚固的骨架纤维。例如，如果 1000 个微管蛋白单体首尾相接直线排列，其长度将足够跨越整个细胞，同时，形成的纤维没有足够的强度抵抗周围热能的破坏，除非每一个亚单位都与它相邻的亚单位紧紧连接在一起。然而，这种紧紧的连接将限制纤维去组装时的速率，使骨架纤维成为稳定不变的结构。

骨架纤维结构坚固同时又能迅速的改变，是因为它由多个**原纤维**（protofilament）构成。原纤维不仅首尾相接，同时还并排连接。典型的方式是一条原纤维盘旋于另外一条原纤维上形成螺旋状结构。一个亚单位的加上或去掉需要一个纵向键，一个（或两个）横向键的断裂。而一个蛋白质纤维从中央断裂，则需要数个原纤的纵向键同时断裂（图 16-3）。正是这两种断裂方式所需能量的显著差异，使骨架纤维既可以抵抗热能的破坏，又保持了末端可以迅速组装或解聚的结构动态性。

除亚基间的相互作用外，亚基还与其他的特异性蛋白发生相互作用。这些蛋白质-蛋白质间的疏水性和非共键的相互作用使构成骨架纤维的蛋白质亚基牢固的绑在一起（图 3-5）。不同类型的骨架纤维，其亚基与亚基的作用方式不同。例如，中间纤维是靠 α 螺旋上的横向连接形成的。单个亚单位交错在纤维中，使中间纤维能够承受一定的伸缩力和弯曲力，形成了绳状结构（图 16-4）。与中间纤维不同，构成微管的球蛋白通过纵向键连接，然后 13 条原纤维通过横向键连接起来。这种横向键通常比较弱，因此，微管比中间纤维更易破坏。

成核过程是骨架纤维聚合体形成的限速步骤

多个原纤维组织形成骨架纤维聚合体有一个重要的附加结果，就是几个蛋白质亚单位能够自发形成短的聚合体，但它们并不稳定，被细胞迅速的去组装。这是因为每一个单体只与其他的几个单体相互作用。对于一个新的巨大的丝的形成，亚单位必须先形成一个起始的凝聚物，或称核，它是由多个亚单位通过亚单位间的相互作用形成的，并且它能够通过加上更

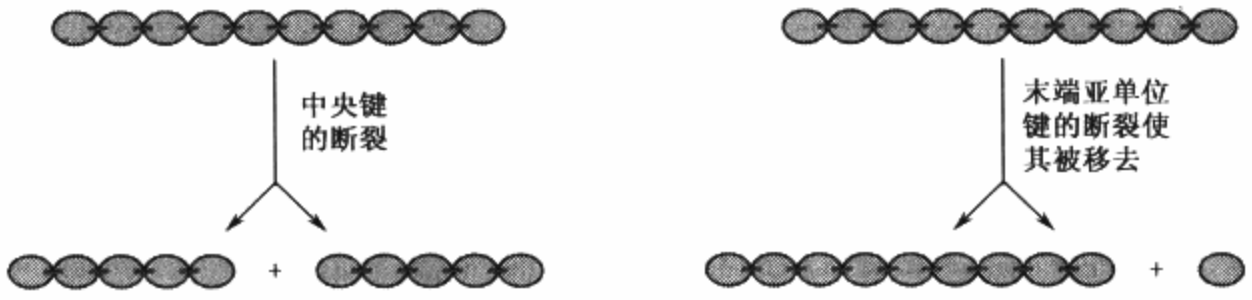


图 16-3　带有动态末端的细胞骨架的热力学稳定性

细胞骨架纤维由不只一个原纤维构成，这使它的末端处于动态变化中，同时使骨架纤维可以抵抗热力学的破坏作用。在这个假说模型中，骨架纤维由 5 个原纤维构成。图中红色横杠表示亚单位之间存在的化学键连接

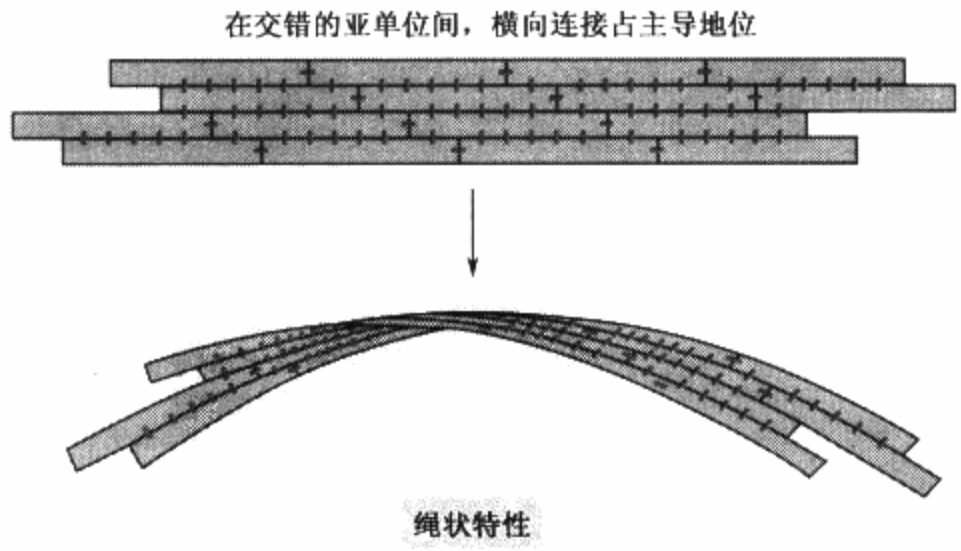


图 16-4　原纤维间通过相邻蛋白质亚单位的连接形成坚固的纤维

中间纤维就是以这种方式形成的。这种特殊的方式使其能弯曲和伸缩

多的亚单位而迅速延长。起始并形成核的过程称作成核现象（nucleation）。这个过程需要一个时间过程，能否形成核取决于有多少个亚单位聚集在一起。小的凝集物的不稳定性是成核的能障，这在肌动蛋白或微管蛋白的纯溶液中很容易观察到。当聚合作用在只含有某个亚单

位溶液的试管中开始时，有一个起始的延迟期，在这段时间里不能观察到丝的形成。其实，在延迟期阶段，核被缓慢地组装，因此跟随着延迟期就是一个纤维迅速延长的时相。在这个阶段，亚单位迅速加到了形成的核的末端［图 16-5（A）］。最终，系统达到一个稳定状态，即亚单位从一端加到丝上的速度与另一端亚单位的解聚速度相同，这时，溶液中游离亚单位的浓度称为临界浓度（critical concentration，C_c）。临界浓度的值等于解聚速率常数与组装速率常数的比值，即 $C_c = k_{off}/k_{on}$。

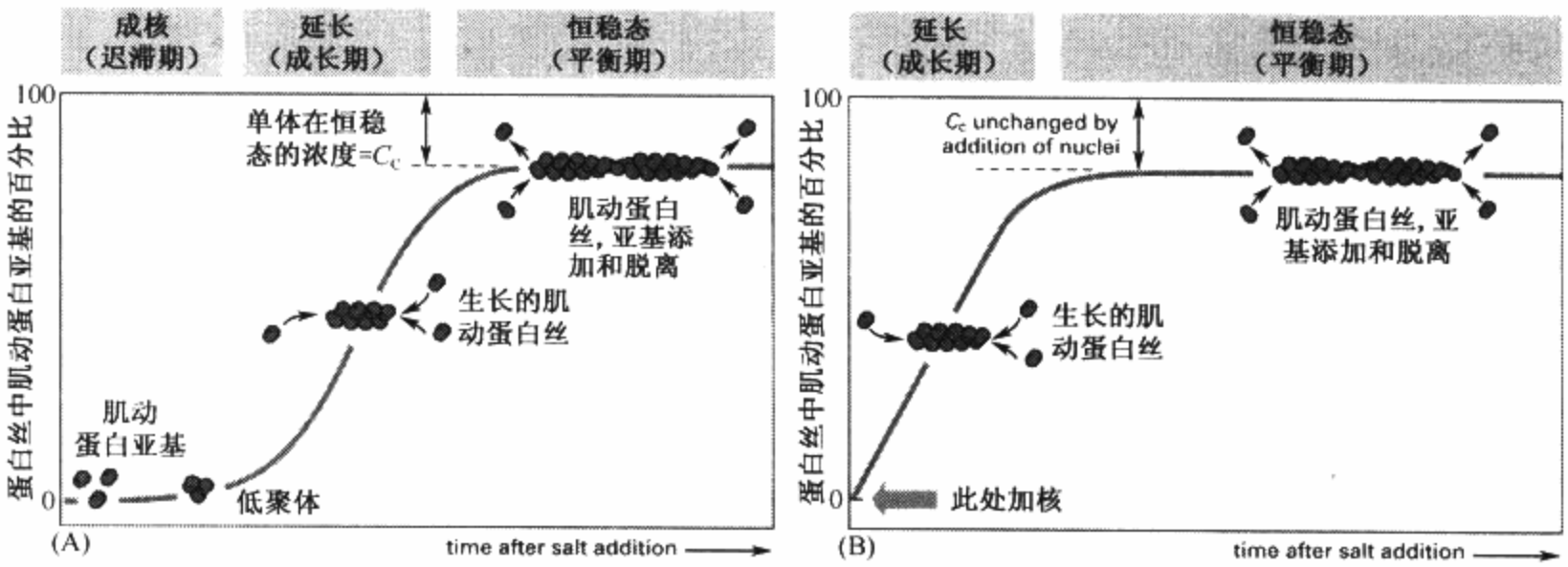


图 16-5　试管中肌动蛋白合成过程的时间曲线

（A）提高肌动蛋白纯溶液的盐离子浓度起始肌动蛋白丝合成的时间曲线

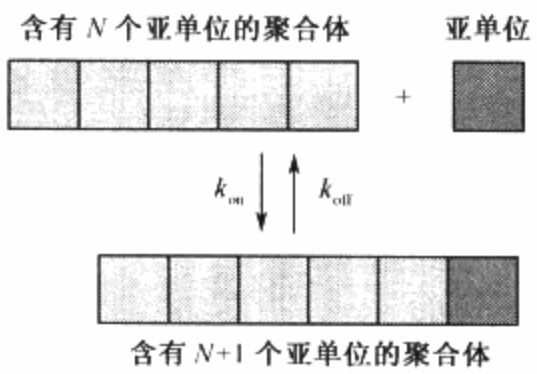
（B）利用已经合成的肌动蛋白丝的碎片作为核起始肌动蛋白丝合成的时间曲线

如果将预先合成的核放入溶液中，纤维聚合反应开始的延迟期将被消除［图 16-5（B）］。在纤维核的形成过程中，细胞是在特定的位点通过特定的蛋白质催化这个反应起始的。这种成核的调控方式是细胞控制其形状和运动的主要方式。

专题 16-2　肌动蛋白和微管蛋白的聚合

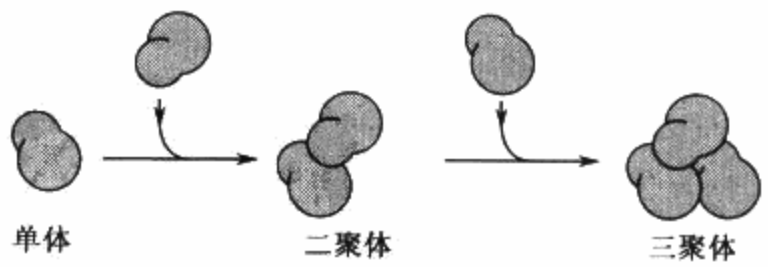
组装速率和解聚速率

线形的蛋白质分子聚合体，如肌动蛋白丝和微管，是通过在聚合体末端加上或移去蛋白质亚单位完成组装和去组装的。加亚单位反应（组装）的速率常数用 k_{on} 表示，其单位为 $L/mol \cdot sec^{-1}$。移去亚单位反应（解聚）的速率常数用 k_{off} 表示，单位为 sec^{-1}。



成核过程

只有通过临近亚基间的多个相互连接才能形成稳定的螺旋聚合体。如肌动蛋白，两个亚基之间的绑定相对弱一些，而三个单体形成三聚体相对更稳定。



如果进一步有单体加到这个三聚体上，那么这个三聚体可以作为聚合反应的核。对于微管蛋白，其核要更大一些，且结构更加复杂（例如，由 13 个微管蛋白形成环，或者需要更多微管蛋白亚单位）。

核的组装形成相对来说是一个较慢的过程，这正解释了聚合过程中延迟期的存在。延迟期可以通过加入预先生成的核而除去，如加入已经聚合的微管或肌动蛋白丝的片段。

临界浓度

切丝蛋白每秒加到聚合体上的亚单位单体数目与游离亚单位的浓度（$k_{on}C$）呈比例，但亚单位解聚的速率常数k_{off}并不依赖于浓度C。随着聚合体的生长，亚单位被耗尽，游离亚单位的浓度C降到一个恒定值，这个值称为临界浓度C_c。此时，达到平衡状态，组装速率与解聚速率相等。

即 $$k_{on}\,C = k_{off}$$

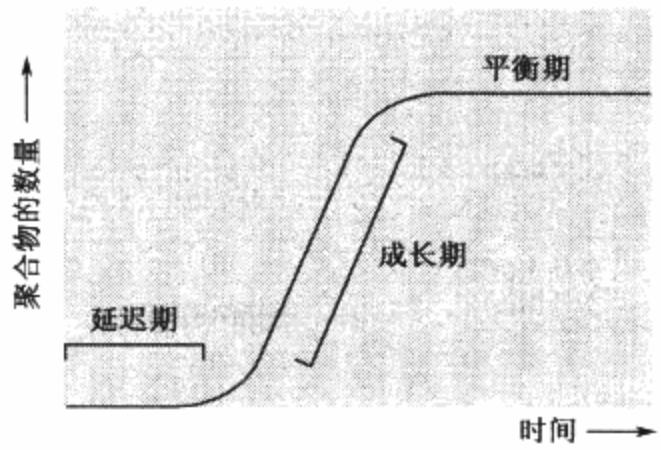
因此，

$$C_c = \frac{k_{off}}{k_{on}} = \frac{1}{k}$$

（这里，k表示亚单位组装到聚合体上的反应的平衡常数图 3-44）。

聚合过程的时间曲线

蛋白质亚单位组装到一个长的螺旋形聚合体上如骨架纤维，或细菌的鞭毛上，典型表现为如下的时间过程



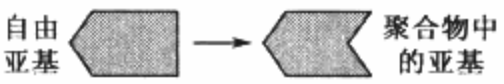
用于成核的延迟期。

延长期，单体加到暴露的生长的纤维的末端引起纤维生长的阶段。

平衡期，或稳定阶段，当单体的组装与解聚的速率相等时就进入平衡期。

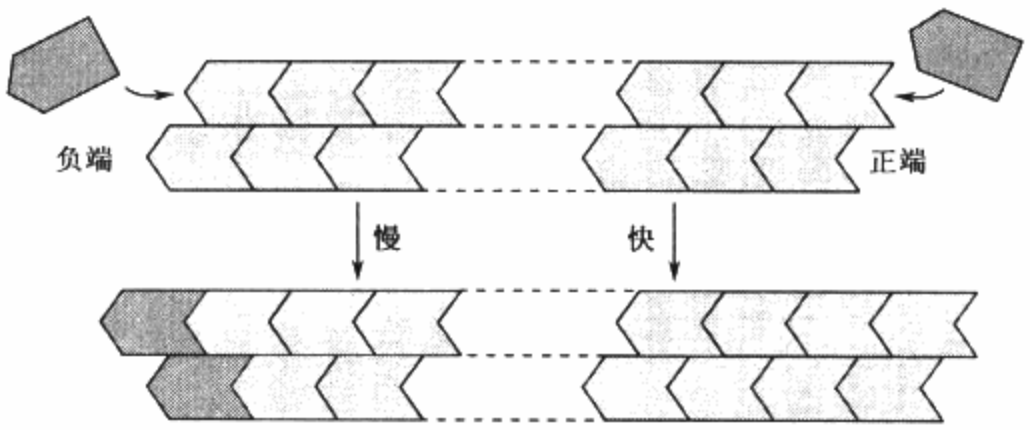
正负端

肌动蛋白丝和微管聚合体的两端生长速率不同。生长速率较快的一端称为正端，而生长速率较慢的一端称为负端。两端生长速率的不同可能是因为亚基加到聚合体上时发生构象变化造成的。



这种结构上的变化影响了亚单位加到两末端上的速率。

聚合体正负末端的k_{on}和k_{off}的值不同，但在简单的聚合反应中，也就是没有 ATP 或 GTP 水解的聚合反应中，正负末端的k_{off}/k_{on}，即C_c是相同的。这是因为，当亚单位在这两个末

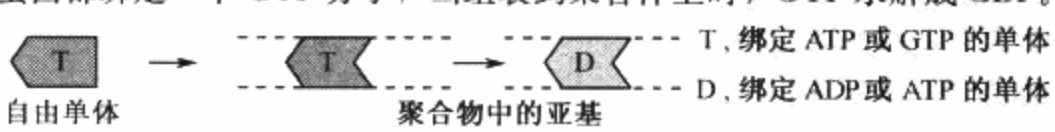


端解聚时，完全相同的亚单位间的相互作用被破坏了，同时，解聚后的亚单位的最终状态也相同。而亚单位的解聚又决定了与其相连的末端的平衡常数，因此，两个末端的C_c是相同的：如果正端生长的速度是负端的 4 倍，那么它解聚的速度也比负端快 4 倍。

肌动蛋白和微管蛋白聚合的过程中，如果伴有核苷三磷酸的水解则不符合此规律。

核苷酸水解

每个肌动蛋白分子都绑定一个 ATP 分子，当组装到聚合体上时，其 ATP 水解转变为 ADP。与肌动蛋白相似，每一个微管蛋白都绑定一个 GTP 分子，当组装到聚合体上时，GTP 水解成 GDP。



核苷酸键的水解降低了亚单位与相邻亚单位间的亲和力，这使其更易从纤维末端解聚下来（可能机制见图 16-11）。通常，亚单位以 T 形式加到纤维上，而以 D 形式解聚离开。

前面提到聚合体一直生长，直到达到临界浓度为止。因此，当 k_{on}^{D} 和 k_{off}^{T} 非常小时，我们可以忽略它们，这样，当

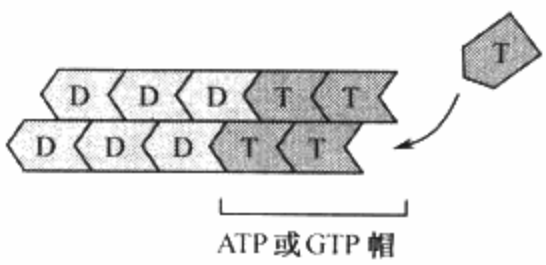
$$k_{on}^{T}\,C = k_{off}^{D} \text{ 或 } C_c = \text{切丝蛋白}\frac{k_{off}^{D}}{k_{on}^{T}}$$

时，聚合体停止生长。

这是一个稳定状态，但并不是真正的平衡状态，因为自由亚单位的核苷酸转变反应将使 ATP 或 GTP 完全水解。

ATP 帽和 GTP 帽

亚单位加到肌动蛋白丝或微管丝的速度比与它们绑定的核苷酸的水解速度快。这样，亚单位的末端就形成了一个含核苷三磷酸的“帽子”——肌动蛋白丝的是 ATP 帽，微管的是 GTP 帽。

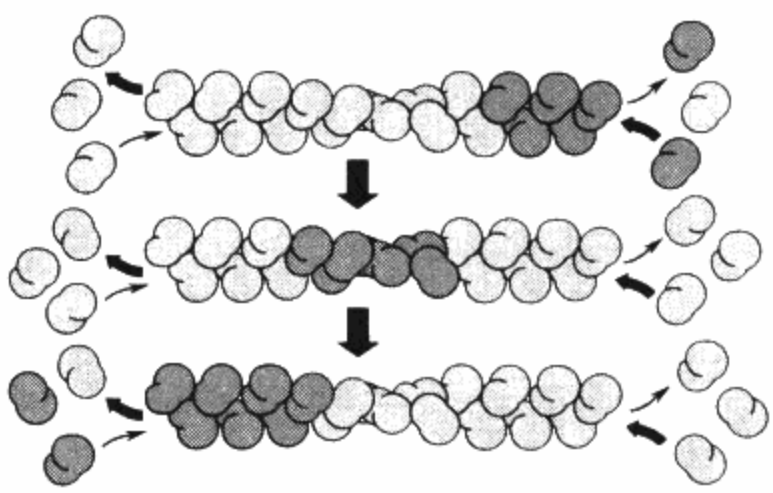


我们可以观察到细胞骨架聚合体存在动态不稳定和踏车两种行为。这两种行为都与核苷三磷酸的水解有关。在微管中主要是动态不稳定，而在肌动蛋白丝中主要为踏车现象。

踏车现象

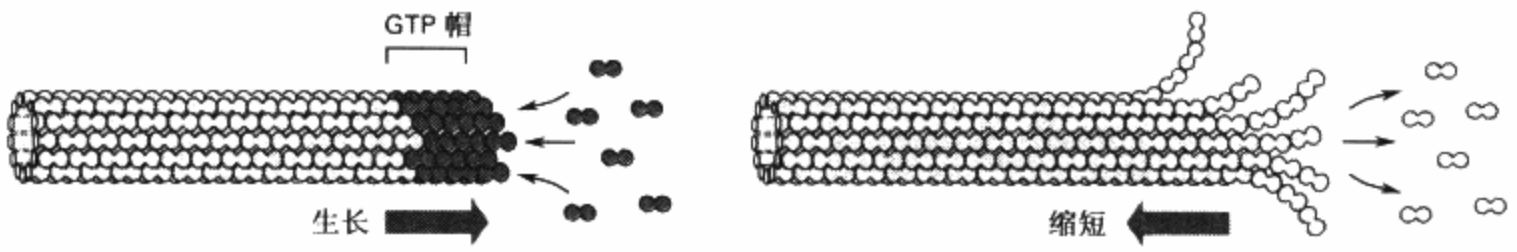
伴随在聚合体合成过程中的核苷酸的水解，引起的一个结果就是改变了聚合体两个末端的临界浓度。因为 k_{off}^{D} 和 k_{on}^{T} 涉及不同的反应，所以它们的比值 k_{off}^{D}/k_{on}^{T} 在聚合体两个末端并不相同，负端的临界浓度大于正端的临界浓度。

因此，如果将聚合体两个末端暴露出来，在合成过程中，游离单体的浓度将介于正端临界浓度之上，负端临近浓度之下。



动态不稳定

当微管末端为绑定 GDP 的微管蛋白时，其解聚速率比绑定 GTP 的微管蛋白快 100 倍。有 GTP 帽时，则微管倾向于生长，如果去掉了，则开始解聚。



微管处于缓慢生长和迅速解聚交替的状态中的现象称为动态不稳定。

微管蛋白和肌动蛋白亚单位“从头到尾”组装形成的骨架纤维具有极性

微管由微管蛋白亚单位聚合而成，而微管蛋白本身是一个异源二聚体。它由亲缘关系较近的两个球蛋白 α 微管蛋白（α-tubulin）和 β 微管蛋白（β-tubulin）通过非共价键紧密连接形成的（图 16-6）。这两种球蛋白只能以复合物的形式存在。每一个球蛋白单体，α 或 β，都有一个 GTP 位点，可以绑定一分子 GTP。当形成 αβ 二聚体后，α 微管蛋白上的 GTP 被固定在二聚体表面，不能水解，也不能改变。β 微管蛋白上的 GTP 则不同，它是可变的，能以 GTP 或 GDP 的形式存在。而前面我们已经知道，GTP 水解生成 GDP 影响着微管的动态结构。

微管是由 13 条平行的原纤维构成的坚硬的、中空的、圆柱状细胞器结构。每个原纤维

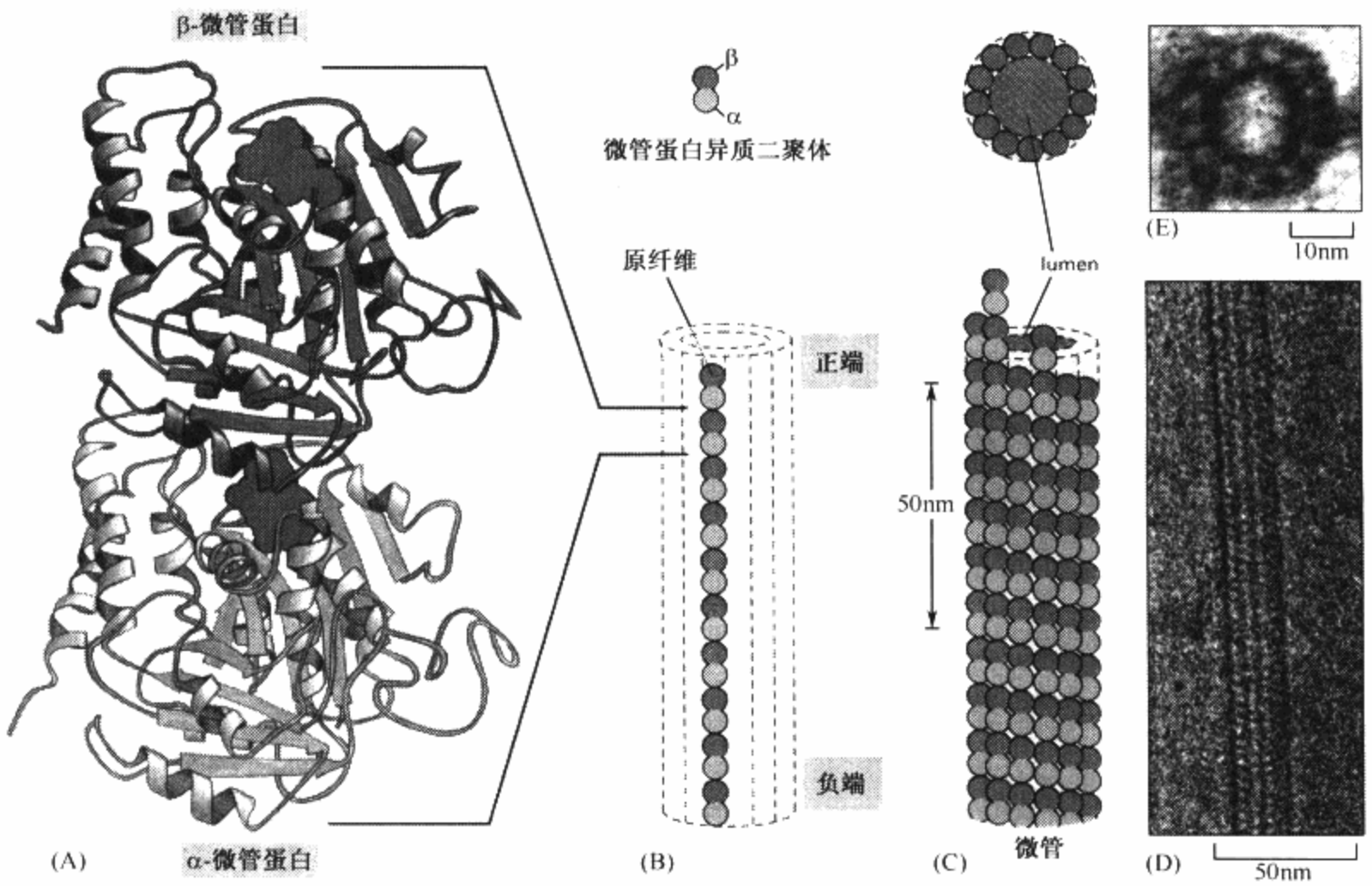


图 16-6　微管及其亚单位的结构

（A）α微管蛋白和β微管蛋白单体紧密连接形成了原纤维的基本结构单位——微管蛋白异源二聚体。图中红色部分代表GTP分子，其中，紧紧绑定在α微管蛋白上的GTP分子可视为二聚体的一部分，而β微管蛋白上的GTP分子结合并不牢固，在微管结构动力学中起重要作用。（B）图中显示了一个原纤维及原纤维上的一个异源二聚体。每个原纤维由异源二聚体单位按通相同方向排列形成。（C）13条原纤维对齐并联排列构成坚硬的、中空的、管状微管。（D）电子显微镜下的微管片段。（E）电子显微镜下13条原纤维构成的微管的横切面图

由α微管蛋白和β微管蛋白亚单位交替排列形成。当异源二聚体组装形成中空柱状微管后，产生了两种新的蛋白质亚单位间的相互作用。一种是沿着微管的纵轴，位于上方的β微管蛋白分子与其下方临近的α微管蛋白间形成了接触面，类似于异源二聚体中α微管蛋白和β微管蛋白的相互作用，在此接触面上形成了很强的连接。而垂直于该接触面，在横轴方向上，相邻的原纤维间亦形成了强有力的连接。其中，主要的横向连接源于同种类型的单体，α-α及β-β。总之，横向和纵向的连接在规则的螺旋微管中重复排列着。因此，亚单位通过多个相互作用被固定在微管中，解聚只能发生在微管的末端（图16-3）。

微管中，蛋白亚单位都按相同的方向组装形成原纤维，而原纤维本身也按相同方向对齐并联排列（图16-6，每一个异源二聚体中，α微管蛋白在下，β微管蛋白在上）。因此，微管本身具有显著的结构极性，一端暴露出α微管蛋白，另一端暴露出β微管蛋白。

肌动蛋白丝的亚单位是球状单体蛋白质，而非二聚体。与微管蛋白类似，每个肌动蛋白亚单位都有一个核苷酸绑定位点。不同的是，肌动蛋白亚单位绑定的是ATP（或ADP），而非GTP（或GDP）（图16-7）。肌动蛋白亚单位“从头到尾”组装形成的肌动蛋白丝也具有显著的结构极性。肌动蛋白丝可以看作由两个平行的原纤维互相缠绕形成的右手螺旋。因而，其韧性比中空柱状的微管好。在活细胞中，多种辅助蛋白将肌动蛋白丝绑在一起，交联形成了远远比单个肌动蛋白丝坚固的庞大结构。

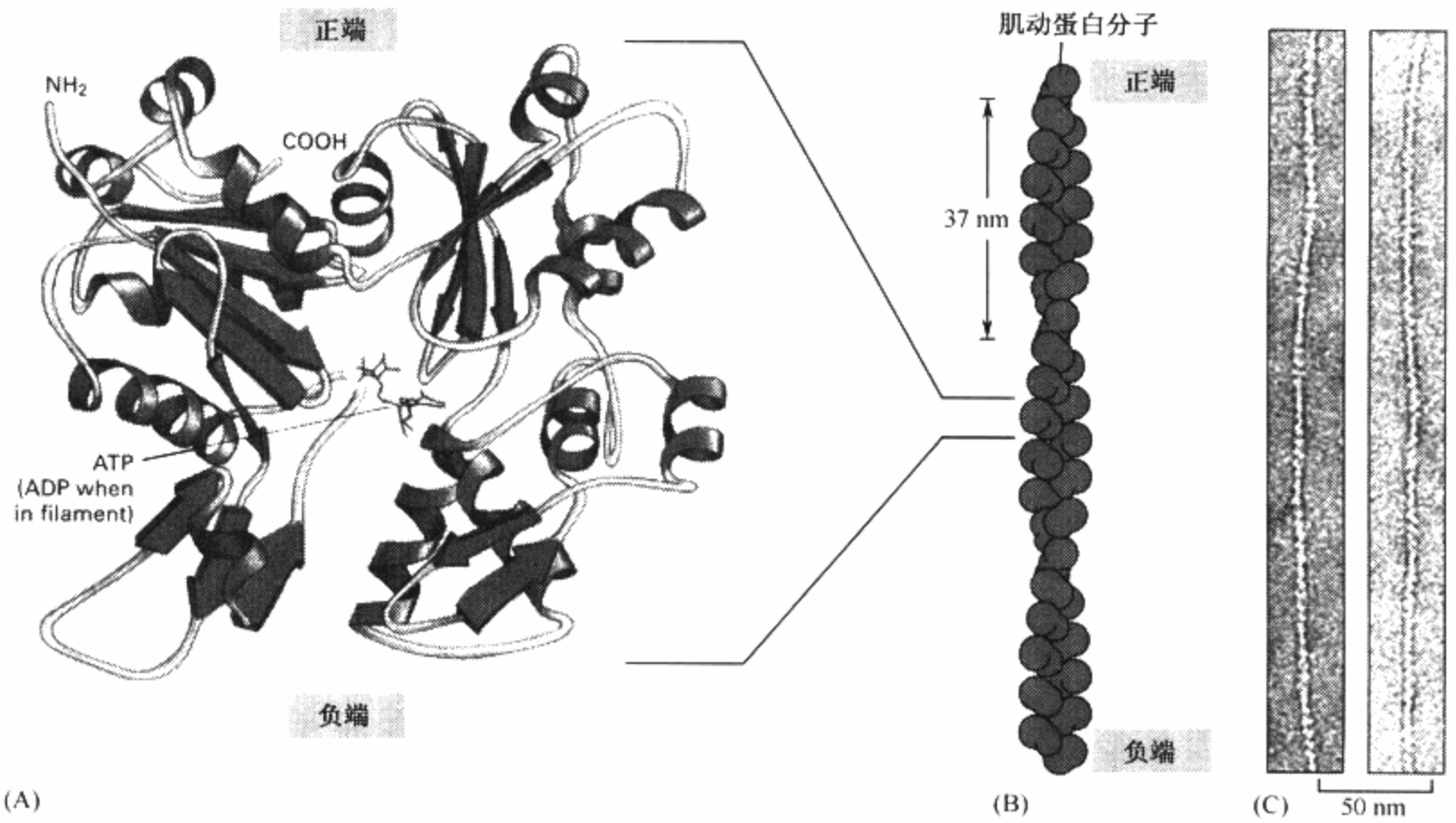


图 16-7　肌动蛋白单体和肌动蛋白丝的结构

（A）肌动蛋白单体及绑定在蛋白上的 ATP（或 ADP）分子。图中中央处黄色部分代表 ATP（或 ADP）。（B）肌动蛋白丝上单体的排列。可以认为肌动蛋白丝是由肌动蛋白单体形成的单螺旋，也可以认为是由两条平行的原纤维通过横向连接形成的螺距为 37nm 的双螺旋。肌动蛋白丝中亚单位按相同方向排列。（C）电子显微镜下的肌动蛋白丝。其中的肌动蛋白丝经阴性染色

微管和肌动蛋白丝两端的生长速率显著不同

微管和肌动蛋白丝亚单位有规则的、平行的、定向的排列造成了它们结构上的极性。其中，定向排列严重影响着纤维的生长速率，导致聚合体两个末端生长速率不同。在含有 N 个亚单位的纤维的任意一端加上一分子亚单位都将形成 $N+1$ 个亚单位的纤维。在没有 ATP 或 GTP 水解的情况下，由于自由能不同，因此在聚合体的任意一端组装亚单位反应的平衡常数必定是一样的。尽管两末端的 k_{on} 和 k_{off} 的值差异很大，但在这种情况下，两端的 k_{on} 和 k_{off} 比值，即 k_{on}/k_{off} 是相同的。

微管和肌动蛋白丝的组装和解聚的速率常数 k_{on} 和 k_{off} 处于动态变化中。像这样具有极性结构的纤维，通常其一端的 k_{on} 和 k_{off} 的值比另一端大许多。因此，如果在含有合成好的标记的纤维片段溶液中加入过量的纯蛋白质亚单位，就可以观察到片段一端延长的速度比另一端快（图 16-8）。如果迅速稀释该溶液至游离亚单位浓度低于临界浓度，则可以观察到延长快的一端解聚的速度也快。纤维的两端都处于动态变化中，其中，生长和解聚速度都快的一端称为正端（plus end），另一端称为负端（minus end）。

在微管中，暴露出 α 亚单位的一端为负端，暴露出 β

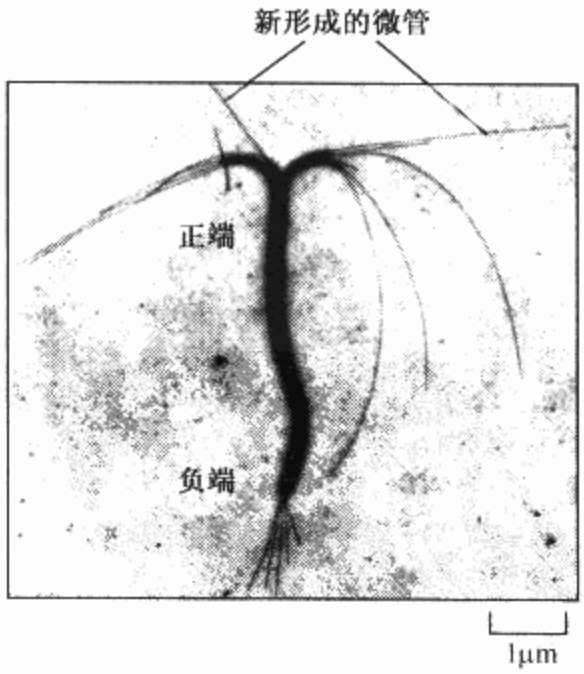


图 16-8　微管正端的优先生长

微管和肌动蛋白丝都是一端的生长速率快于另一端。我们从含有处于合成状态微管蛋白的纤毛中轴中获得一个稳定的微管束。图中，位于顶部的那端为正端，可以看出微管束正端比负端生长得快

亚单位的一端为正端。在肌动蛋白丝中，单体上绑定 ATP 的空间位点的开口方向均指向负端（由于这个原因，肌球蛋白加到丝上后，其头部呈箭头状，因而，肌动蛋白丝的正端曾被称为“倒刺端”，而负端被称为“突出端”）。

当增加亚单位时自由能的改变（ΔG）小于零，则纤维的延长过程将自发进行。游离的亚单位的浓度高于临界浓度时就是这种情况。相反，当自由能的改变大于零时，纤维将自发解聚。细胞内，这些自发过程与能量释放相偶联。因此，在纤维自发的组装或解聚过程中释放出的自由能可以用来做一些机械的工作，特别是推或拉一些附带的重荷。例如，延长的微管可以推动细胞膜使其突出，而收缩的微管在分裂后期可以牵拉姐妹染色单体帮助其分离。与微管类似，延长的肌动蛋白丝可以使活动细胞的前沿突出，这个我们将在后面讨论。

纤维的踏车和动态不稳定是微管蛋白和肌动蛋白上绑定的核苷酸水解的结果

迄今，我们关于骨架纤维动力学的讨论忽略了一个重要的事实，就是对于微管和肌动蛋白丝来说，形成它们的亚单位肌动蛋白和微管蛋白，不仅通过非共价键形成了聚合体，而且它们本身还是蛋白酶，能催化核苷三磷酸 ATP 或 GTP 水解。游离的亚单位，其水解过程进行得非常缓慢，但当该亚单位组装进入纤维中时，水解速度加快。肌动蛋白或微管蛋白亚单位一组装到纤维上，紧跟着发生核苷酸水解，每个亚单位释放一个游离的磷酸集团，但去磷酸的核苷酸仍被固定于纤维上（在微管中，核苷酸结合位点位于两个相邻亚单位的接触面上；见图 16-6。但在肌动蛋白中，核苷酸深埋于亚单位中间的裂缝中；图 16-7）。因此，一个纤维有两种不同的结构形式，一种是带有“T”形核苷酸（对肌动蛋白来说是 ATP，微管蛋白则是 GTP）的结构；另一种是带有“D”形核苷酸（肌动蛋白为 ADP，微管蛋白为 GDP）的结构。

当核苷酸水解时，高能磷酸键断裂释放出的能量多数被储存于聚合体晶格中，这使 D 形聚合体解聚的自由能变（ΔG）高于 T 形的。因此，D 形聚合体解聚的平衡常数 K_D（$K_D = k_{off}/k_{on}$，数值上等于它的临界浓度 $[C_c(D)]$）大于相应的 T 形聚合体的平衡常数，即 C_c（D)大于 C_c（T)。相应于游离亚单位的实际浓度，则 D 形聚合体缩短时 T 形聚合体在生长。

在活细胞中，ATP 和 GTP 的游离浓度高于 ADP 和 GDP 的，因此，多数游离亚单位以 T 形存在。亚单位在聚合体中存在的时间越长，它的磷酸键水解的可能性就越大。位于纤维末端的亚单位以 T 形还是 D 形存在，取决于其核苷酸水解速率与纤维亚单位组装速率的相对比。如果亚单位增加的速率更快一些，即纤维正处于快速生长阶段，则新的亚单位将在前一个亚单位核苷酸水解之前加到聚合体上。这样，聚合体末端仍然保持着 T 形，形成 ATP 帽（ATP cap）或 GTP 帽（GTP cap)。反之，如果亚单位增加的速率慢，水解发生在下一个亚单位加上之前，这样，聚合体的末端则呈 D 形。

纤维末端亚单位的组装速率由游离亚单位的浓度和速率常数 k_{on} 决定。由于纤维两末端结构不同，导致正端 k_{on} 比负端的快许多（专题 16-2)。当游离亚单位处于中间某浓度时，可能会出现正端亚单位的增加速率快于核苷酸水解速率而负端亚单位的增加速率慢于核苷酸水解速率的情况。此时，纤维正端仍呈 T 形，而负端则转变成 D 形。前面说过，D 形的临界浓度高于 T 形的，也就是说，D 形倾向于去组装而 T 形倾向于组装。如果溶液中游离亚单位浓度处于中间范围（高于 T 形的临界浓度，低于 D 形的临界浓度）则纤维在正端组装亚单位，同时在负端进行亚单位的解聚，这就导致产生了纤维的**踏车现象**（图 16-9，专题 16-2)。

在踏车过程中，T 形亚单位被招募到聚合体的正端，同时，D 形亚单位从聚合体负端解

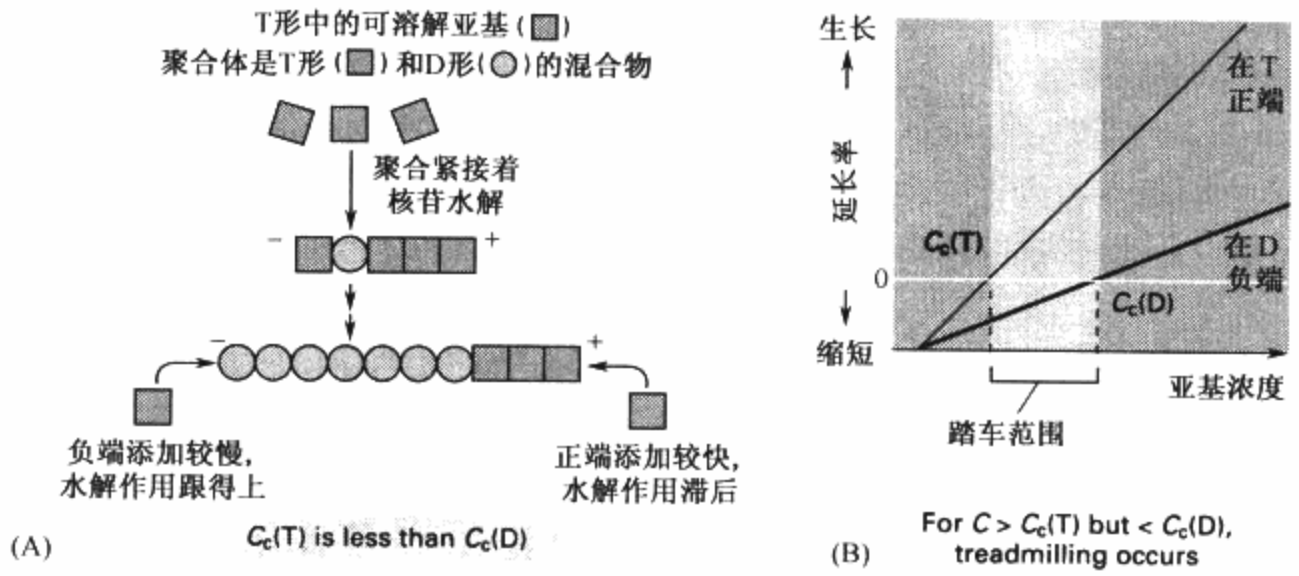


图 16-9　肌动蛋白丝或微管的踏车现象

（A）解释了正负端具有不同的临界浓度。生长的纤维两端先加上 T 形亚单位，然后再发生核苷酸的水解。这个例子中，纤维正在生长，正端延伸的速率比水解的速率快，而且，正端末端的亚单位始终呈 T 形。然而在负端，水解的速率快于延伸的，末端呈 D 形。（B）游离亚单位处于中间浓度范围内时发生踏车。T 形纤维末端聚合的临界浓度比 D 形的低。如果游离亚单位的实际浓度介于二者之间，则导致踏车现象，正端生长负端缩短

聚下来。肌动蛋白丝或微管的正负末端组装和去组装反应的自由能产生差异时发生 ATP 或 GTP 的水解，同时产生踏车现象。游离亚单位浓度处于一个特殊的中间点时，纤维正端的生长和负端的缩短相平衡。这时，亚单位在游离和聚合两种状态中迅速循环着，同时，纤维的总长度保持不变。这种“稳态踏车”需要以核苷三磷酸水解的方式不断地消耗能量。然而，细胞内踏车的程度还不能确定。在试管中，可以观察到单个肌动蛋白丝的踏车现象。在活细胞中，可以观察到单个微管发生类似于踏车的现象（图 16-10）。

T 形和 D 形在行为上的动态差异对纤维的行为有另外一个重要影响。如果一个末端增加亚单位的速率在数值上与水解的速率相近，则这端成为 T 形的可能性是有限的，而且水解的速率最终会超过亚单位增加的速率，使该末端变为 D 形。这种变构是突然的，随机的，每单位时间内都有可能发生。因此，在任何一刻，所有微管的末端，一部分呈 T 形，一部分呈 D 形，二者比例依赖于游离亚单位的浓度和水解的速率。

假如游离亚单位的浓度处于形成 T 形末端的临界浓度和形成 D 形末端的临界浓度的中间范围（也就是处于可以观察到踏车现象的浓度范围），此时，任何呈 T 形的末端将生长，而任何呈 D 形的末端将缩短。对于一个单个纤维，一端可能在一段时间内呈 T 形并生长一定长度，然后突然变成 D 形并开始迅

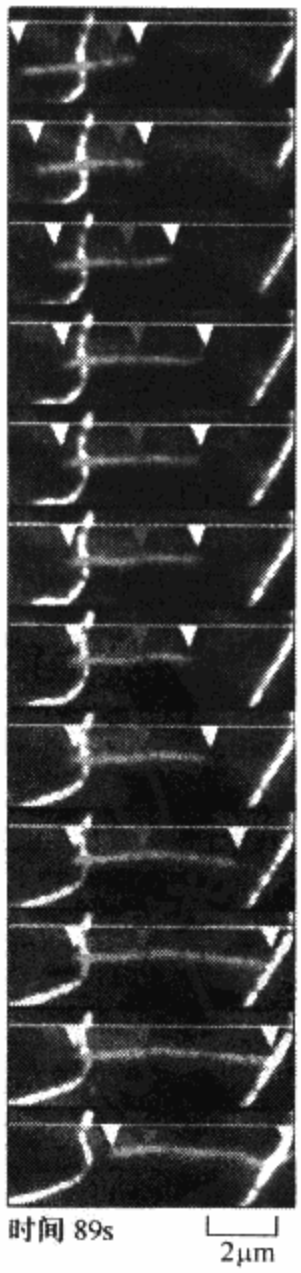


图 16-10　在活细胞中微管的踏车行为

将共价连接若丹明荧光染料的微管蛋白注射到一个细胞中。大概每个微管蛋白结合有 20 个荧光分子。然后用一个灵敏的电子摄像机单独观察一个荧光标记的微管。从图中可以看出，微管好像在从右向左滑动，但实际上，在负端生长正端缩短的过程中，微管晶格依然是稳定的。在此时，正端呈现动态不稳定

速缩短，而整个过程中，游离亚单位的浓度却保持恒定。一段时间后，它有可能变回 T 形并再次开始生长。这种游离亚单位浓度不变，而末端生长和缩短状态的迅速互变，称为**动态不稳定**（图 16-11）。转变后开始迅速缩短的转变称突变（catastrophe），开始生长的转变则称回复（rescue）。细胞内，微管中动态不稳定现象占优势，肌动蛋白丝中踏车现象占优势。

对于微管，T 形末端和 D 形末端结构上的差异是显著的。β 亚单位上绑定 GTP 的微管异

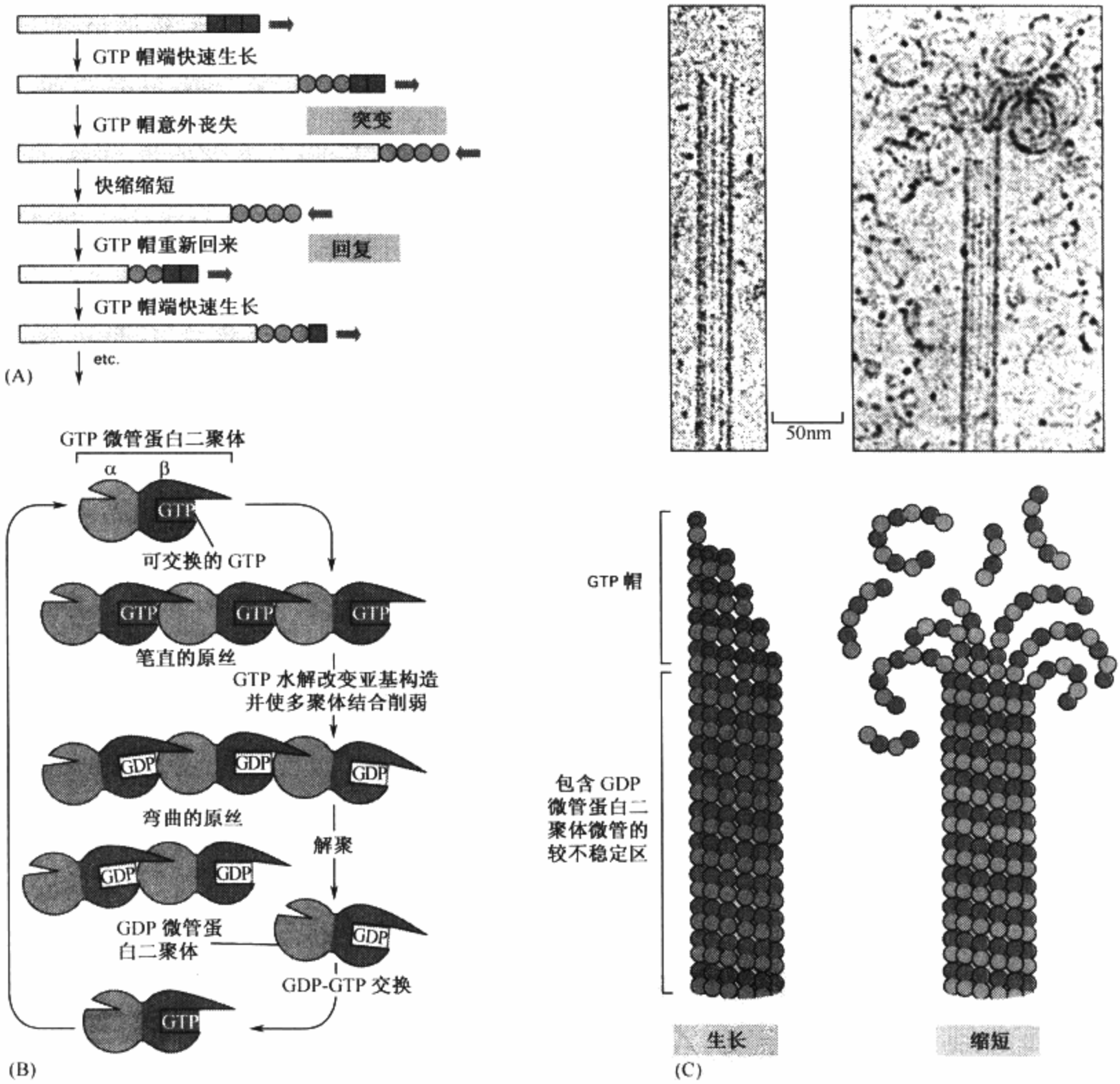


图 16-11　微管生长端和缩短端的结构差异引起的动态不稳定

（A）如果游离微管蛋白浓度介于图 16-9 中所示的临界浓度间，则微管的一个末端将处于生长状态和缩短状态的互变中。正在生长的微管，末端亚单位呈 T 形，形成 GTP 帽。当核苷酸水解的速率快于亚单位增加的速率时，GTP 帽消失，微管开始解聚，这一事件称为“激变”（catastrophe）。但如果 T 形亚单位可以继续加到缩短的末端上，直到形成一个新的 GTP 帽，这时，微管又开始重新生长，称为“回复”（rescue）。（B）微管晶格中 GTP 水解的结构模型。原纤维末端加上的 T 形微管蛋白亚单位引起其末端呈线形生长，这为原纤维包装到微管圆柱形壁上做好了准备。组装后，GTP 的水解引起亚单位结构的改变，原纤维开始弯曲，不能包装入微管的圆柱形壁上。（C）在一个未损伤的微管中，原纤维间强有力的横向连接会迫使由 D 形亚单位组成的原纤维以线形的方式存在于微管圆柱形壁上。而当 GTP 帽消失时，这些 D 形原纤维的弯曲结构得以释放，导致微管进一步破裂。图中为一个正在生长的微管和一个正在缩短的微管。电子显微照片为实际中处于这两种状态的微管，它们是在预先准备好的透明的冰里观察到的

源二聚体形成线形的纤维，纤维间以规则的、强有力的横向键相连。当 GTP 水解生成 GDP 时，蛋白质发生变构，同时引起纤维弯曲。在迅速生长的微管中，由于 GTP 帽的存在，抑制纤维的曲率，并使末端呈线形。当其末端核苷酸水解，曲率抑制解除，纤维开始弯曲。水解释放的能量被微管晶格储存后，导致弯曲的原纤维迅速解聚。在解聚的微管末端，我们可以看到由含 GDP 的微管蛋白形成的弯曲的或环形的寡聚物［图 16-11（C）］。

踏车和动态不稳定需要消耗能量，但却非常有用

踏车和动态不稳定不仅使细胞维持了所有骨架纤维的自身形态，而且使亚单位能够在纤维和胞质溶胶中不断循环。在活细胞中微管和肌动蛋白丝处于怎样的动态中呢？一般来说，微管生长端和缩短端结构上的显著差异导致其每秒钟在生长与缩短中互变数次。我们可以实时地观察到单个微管末端这种动态不稳定（图 16-12）。相比较而言，肌动蛋白丝两种类型末端的差异并不那么显著，因而在光学显微镜下不能直接观测到单体肌动蛋白丝的动态不稳定现象。荧光显微镜技术的发展，使我们可以看到肌动蛋白丝典型的迅速的互变，只有个别微丝可以持续几秒。

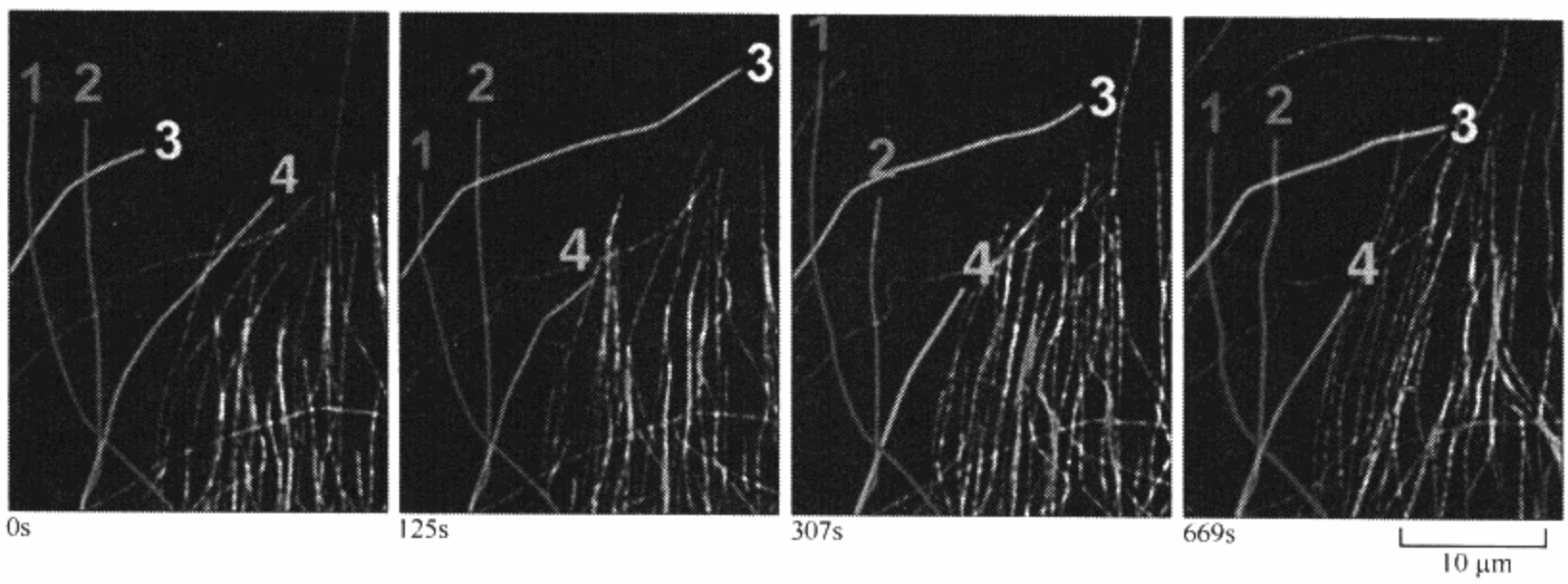


图 16-12　在活细胞中对微管动态不稳定性的直接观察

表面看来，纤维的这种动态行为好像是能源的浪费。为了维持肌动蛋白丝和微管的恒定浓度，细胞必须水解大量的核苷三磷酸使它们的踏车或动态不稳定过程得以进行。本章一开始我们就用蚂蚁踪迹解释了细胞在时间和空间上可变的优越性，而这种优越性的结构基础就是结构的动态变化。单个亚单位非常小，因而可以迅速地扩散；一个肌动蛋白或微管蛋白亚单位能够在 1s 或 2s 内扩散相当于一个典型真核细胞直径那么长的距离。前面说过，新纤维形成的限速步骤是成核过程，因此这些快速扩散的亚单位倾向于聚集到预先合成的纤维的任意末端处，或是聚集在成核步骤已经由特殊蛋白质催化的位点。除非进行特殊的固定，在其他任何情况下，新纤维都具有高度的动态性，它们仅能短暂存在。细胞正是通过控制纤维的成核和有选择性地固定，来控制纤维系统的空间位置和它的结构。细胞看起来像是在不断地试验各种各样的内部结构，然后保留那些有用的。这样，当条件改变或内部信号产生时，细胞可以有条不紊地迅速改变其结构（图 16-13）。

多细胞生物体中，一些特殊的结构，尤其是在一些特殊的细胞中，部分骨架纤维的动态性降低了。终末分化细胞，如神经元，在一段时间内需要维持一个恒定的结构。此时，多数肌动蛋白丝和微管因结合其他蛋白质而被固定。然而，当大脑中一个新的连接被建立，如你

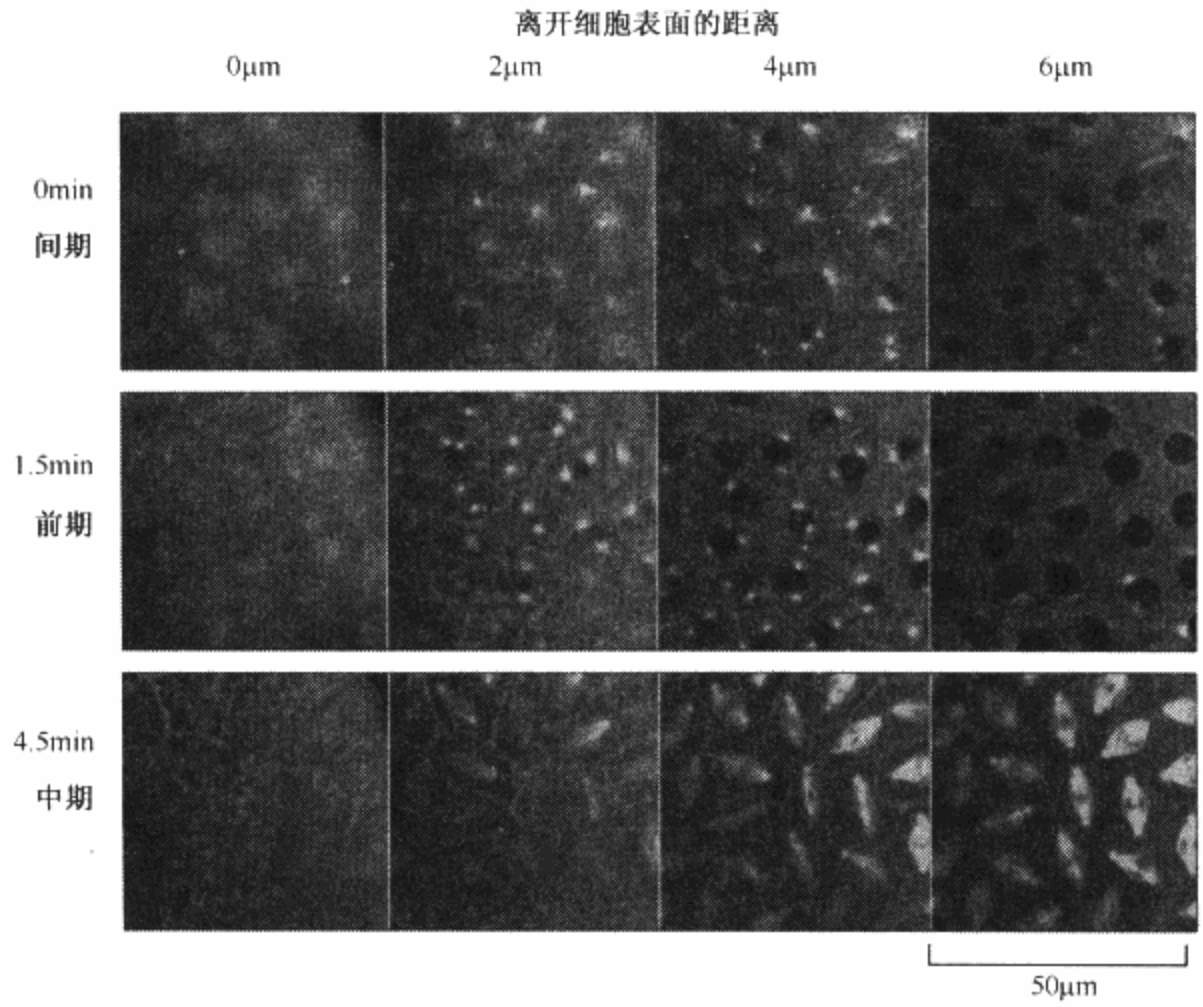


图 16-13　果蝇早期发育时细胞骨架空间结构上的迅速改变

在这个巨大的多核细胞中，早期阶段大约每 10s 发生一次核分裂。图中显示了活胚细胞中肌动蛋白丝（红色）和微管（绿色）的迅速重排。它们的迅速重排是有丝分裂中染色体分离所必需的，也是防止临近核之间碰撞所必需的

从这里阅读的信息转变为长期记忆时，或者一个稳定的神经元产生新的突触时，神经元需要骨架纤维固有的动态性，因而又去掉抑制，使其恢复活性。

其他蛋白质聚合体通过偶联核苷酸水解发生的结构改变是细胞运动所必需的

肌动蛋白丝和微管在核苷三磷酸水解后发生变构的重要原因就是为它们的解聚做准备。肌动蛋白丝和微管在氨基酸序列上完全没有相关性。在结构上，肌动蛋白丝与糖酵解酶有亲缘关系，而微管则与鸟苷酸三磷酸酶的一个大家族有亲缘关系，如异源三聚体 G 蛋白和单体鸟苷酸三磷酸酶（如 Ras），这些结构我们在第 3 章中讨论过。

还有其他一些类型的蛋白质聚合物能绑定并水解核苷三磷酸。例如，在膜内陷基部周围聚集的螺线管形发动蛋白（dynamin），帮助内陷的膜缢缩形成小囊泡（图 13-9）。发动蛋白通过水解 GTP 产生螺管结构上的相应变化并为缢缩提供能量。细菌和古细菌中存在一种与微管蛋白同源的蛋白质，称 FtsZ，它是细胞裂解所必需的。FtsZ 收缩和分解帮助两个子细胞缢裂分离。在体外（*in vitro*），FtsZ 类似微管蛋白，形成原纤维和环，同时，它们也能绑定和水解 GTP（图 16-14）。环曲率的增加和 FtsZ 纤维的解聚与前面描述过的弯曲的 D 形原纤维解聚相似（图 16-11）。它们可能采用的是相似的机制。

这些例子指出了蛋白质聚合体通过利用核苷三磷酸的能量影响细胞结构和动力学的第二种普遍方式。对于一个线形蛋白质聚合体，其一个亚单位的水解和构象变化只引起数十纳米

的改变。但聚合体上的数千亚单位是共同作用的，这样就将每个亚单位的力量放大，引起了数百上千纳米的运动。对于发动蛋白和 FtsZ，很显然，GTP 依赖的构象变化引起脂双层弯曲。

微管蛋白和肌动蛋白在真核生物进化过程中显示出高度的保守性

所有的真核细胞中都含有微管蛋白，所有的细菌和古细菌中都有 FtsZ 存在。棒状和螺旋状细菌还含有与肌动蛋白同源的 MreB，它形成丝并调控细胞的长度。因此，这种通过绑定核苷酸的蛋白质亚单位的自组装来组织细胞结构的原则可以应用于所有的细胞。

微管蛋白分子自身存在多种构象。哺乳动物中，至少存在 6 种 α 微管蛋白和 β 微管蛋白，每种都由不同的基因编码。这些不同的微管蛋白非常相似，在试管中，它们共同参与聚合，形成混合的微管。然而，在细胞内，它们各自有精确的定位并执行不同的功能。有一个这样的惊人的例子，在线虫（*C. elegans*）一类中，其 6 种特殊的接触敏感神经元的微管含有特殊构象的 β 微管蛋白。突变该微管蛋白的基因，细胞的其他功能不受影响，只失去接触敏感的特性。

与微管蛋白类似，肌动蛋白也存在于所有的真核细胞中。大多数生物含有编码肌动蛋白的多个基因，如人中有 6 个。真核生物间，肌动蛋白极其保守。不同物种的微管蛋白氨基酸序列有 90%的相似性。但类似于微管蛋白，氨基酸序列上的微小变化导致了功能上的显著差异。在脊椎动物中，有三种不同构象的肌动蛋白，称为 α、β、γ，它们氨基酸序列上相差很小。α 微管蛋白只在肌细胞中表达，β 和 γ 微管蛋白则共表达于几乎所有的非肌肉细胞。酵母（yeast）的肌动蛋白和果蝇（*Drosophila*）的肌细胞中的肌动蛋白有 89%的相似性，若在果蝇中表达酵母的肌动蛋白，导致该果蝇不能飞，但并不引起表型的改变。

那么如何解释真核生物进化过程中肌动蛋白和微管蛋白的高度保守性呢？其他多数的骨架蛋白，包括中间纤维蛋白、结合肌动蛋白和微管蛋白的庞大的辅助蛋白家族成员，氨基酸序列水平上不具有高度保守性。可能的解释是，因为微管和肌动蛋白丝是普遍而且大量存在的细胞组分，它们要同多种不同的蛋白质发生相互作用，这样就限制了它们的表面结构。肌动蛋白上的一个突变可能导致微管与另一个蛋白质能更好的相互作用，也可能导致绑定于该位点或临近位点的蛋白质不能很好地与微管结合。对酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）细胞的遗传和生化分析表明，微管蛋白直

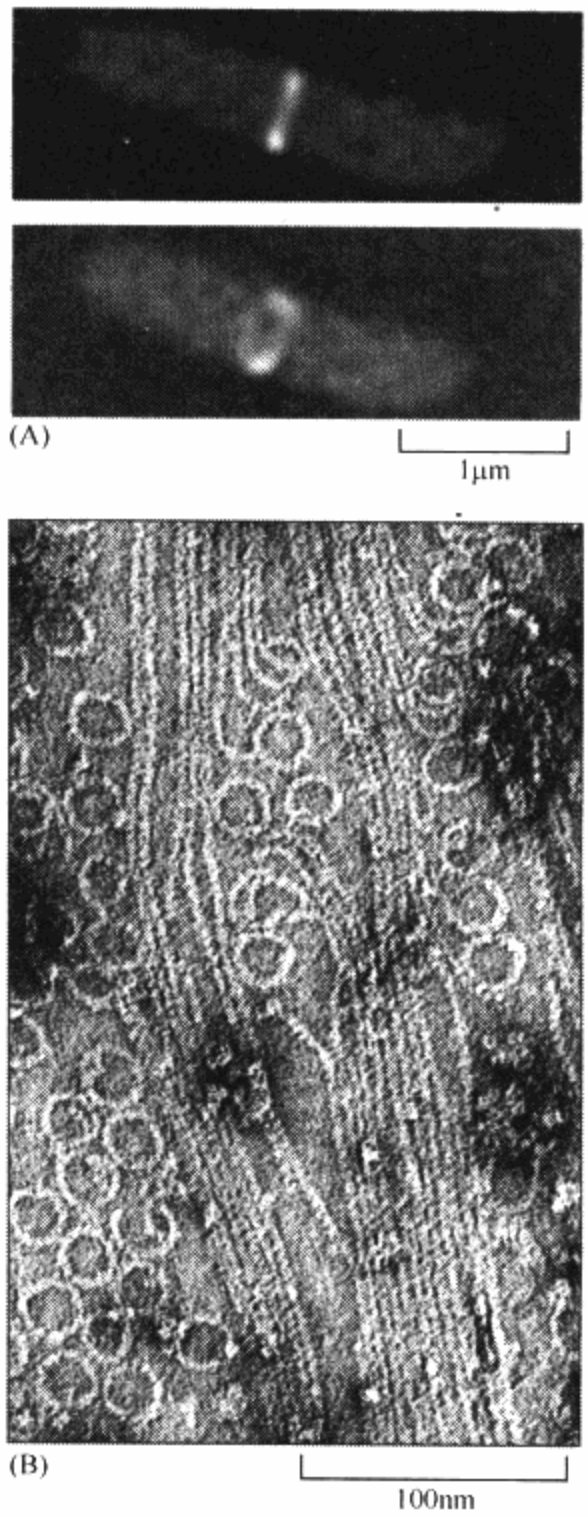


图 16-14　细菌的 FtsZ 蛋白与原核生物的微管蛋白同源

(A) 在正在分离的细菌细胞中，FtsZ 蛋白弯曲呈环状。图为荧光显微镜下活细胞中，通过使用 GFP 与 FtsZ 蛋白融合，定位环。位于上面的图片是从环的垂直面观测的，可以看到呈棒状的环处于正在分裂细胞的中央。位于下面的图片是延环方向观测的，可以看到位于中央的环的结构。(B) 荧光显微镜下，体外形成的 FtsZ 的纤维和环。与图 16-11 右侧的微管蛋白解聚图相似

接与数十种蛋白质相互作用，但间接的相互作用更多（图 16-15）。随着时间的发展，进化的生物体发现保持肌动蛋白和微管蛋白不变，而改变与它们相互作用的蛋白质更有利。

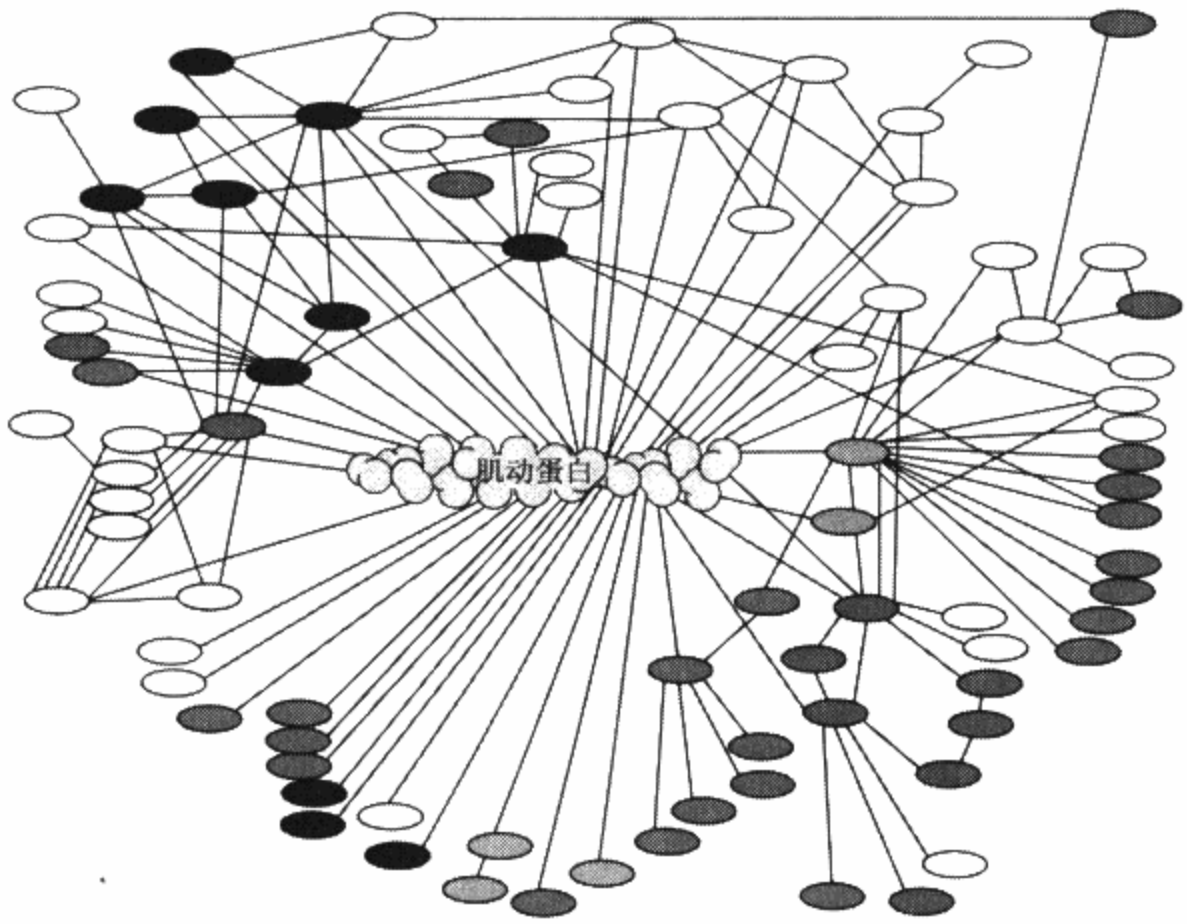


图 16-15　肌动蛋白与辅助蛋白的交叉相互作用

真核细胞中，肌动蛋白与大量不同的辅助蛋白结合。图中显示的相互作用中，多数已在酵母细胞中，通过利用遗传和生化的方法得到证实。细胞内同一过程的辅助蛋白用同种颜色表示，每种颜色代表的内容见图下方检索表

成束的、卷曲螺旋的中间纤维

肌动蛋白和微管蛋白存在于所有的真核细胞中，但第三种主要的骨架纤维——中间纤维（intermediate filament），仅存在于后生动物中，包括脊椎动物、线虫和贝类。而且在这些生物体中，并不是每种类型的细胞都含有中间纤维。例如，脊椎动物中枢神经系统中产生髓磷脂的神经胶质细胞不含有中间纤维。细胞质中的中间纤维与它们的祖先核纤层蛋白非常接近。丝状核纤层蛋白形成的真核细胞核膜膜内的网状结为同源染色体和核孔提供了锚定位点（它们在细胞分裂过程中的动态行为将在第 12 章中讨论）。在后生动物进化过程中，核纤层蛋白基因有几次明显的基因重复。这些重复经过变体，成为产生绳状的细胞质中间纤维的基因。这些纤维的机械性质对于没有外骨骼的软体动物如线虫和脊椎动物来说是至关重要的。中间纤维，尤其存在于细胞质中的中间纤维，属于机械应激。它们主要的功能可能是赋予细胞和组织机械力。

在中间纤维蛋白单体是经中央 α 螺旋结构域延伸而形成的狭长的分子。两个单体扭曲形成的平行的双螺旋是中间纤维特有的聚合体。一对平行的二聚体通过反向平行的方式连接形

成复杂的四聚体。这个四聚体呈现出类似微管二聚体或肌动蛋白单体的可溶性亚单位的性质（图 16-16）。

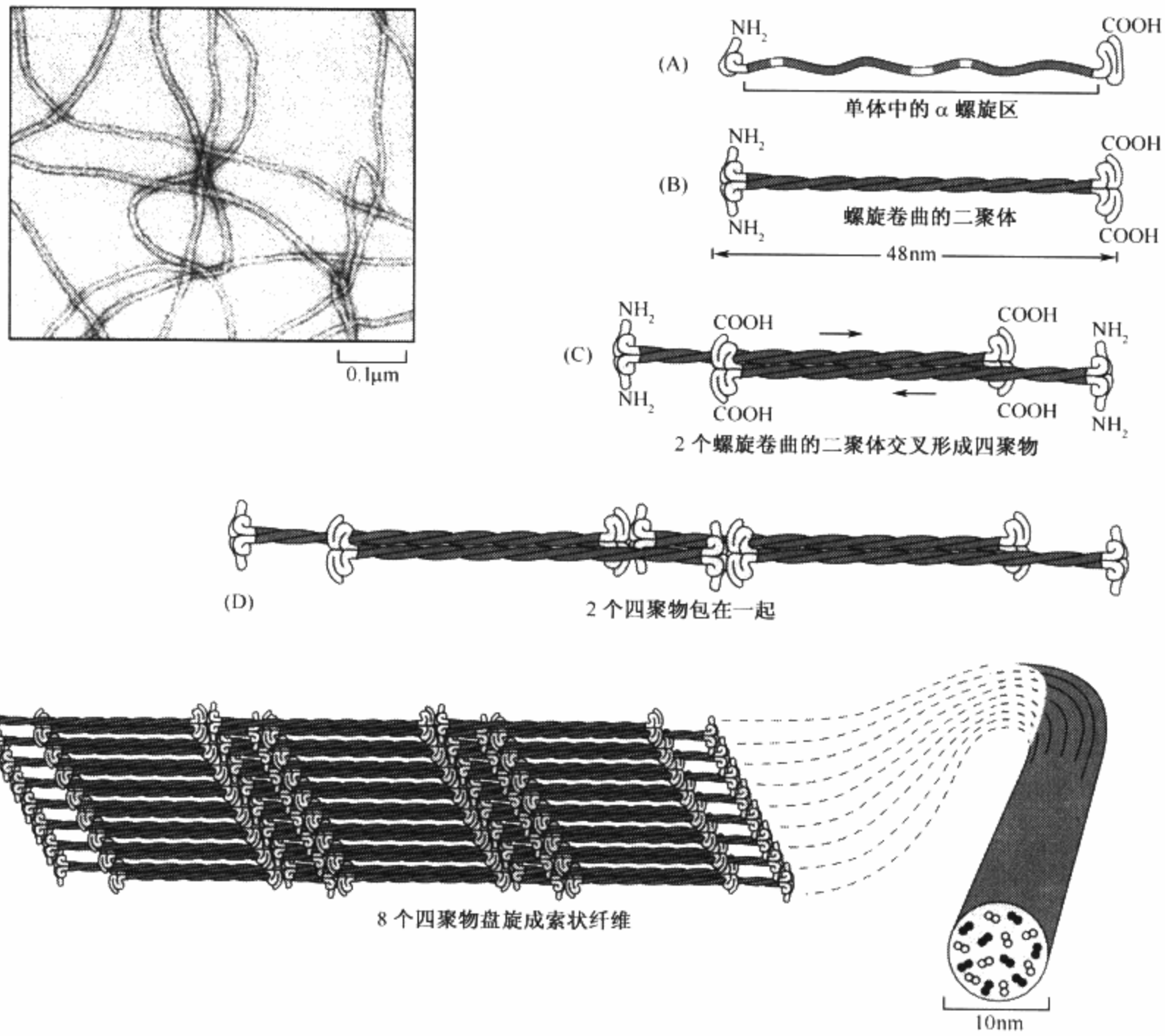


图 16-16　中间纤维结构模型

（A）单体。（B）成对的单体形成二聚体。（C）二聚体反向平行排列形成四聚体，四聚体是中间纤维的可溶性的亚单位。（D）四聚体中，一个二聚体相对另一个二聚体发生偏移，这样使四聚体之间可以相互连接。（E）最终形成的直径为 10nm 的绳样的丝是由四聚体以螺旋方式包装形成的，其横截面由 16 个二聚体组成，这些二聚体中，一半指向同一个方向，另一半指向相反的方向。左上角为中间纤维的电镜照片

四聚体亚单位由方向相反的两个二聚体形成，因此其两个末端是相同的。这样，就使其整体结构不具有极性，明显区别于肌动蛋白丝和微管的极性结构。四聚体经进一步包装形成原纤维，8 条平行的原纤维形成丝。因而每条丝的横截面都有 32 个 α 螺旋。螺旋卷曲蛋白特有的强有力的疏水相互作用将这么多的聚合体连接在一起，赋予了中间纤维绳样的性质，易弯曲且极不易断裂（图 16-17）。

相对于肌动蛋白丝和微管，中间纤维的组装和解聚的机制我们还知之甚少。但在多数类型的细胞中，它们呈现明显的动态结构。通常状况下，蛋白质的磷酸化能够调节它们的去组装，在有丝分裂期间，核纤层蛋白的去组装就是以同样的蛋白质磷酸化方式调控的（图 12-20）。例如，被标记的亚单位经显微注射入组织培养细胞，几分钟内，它们迅速加到已经

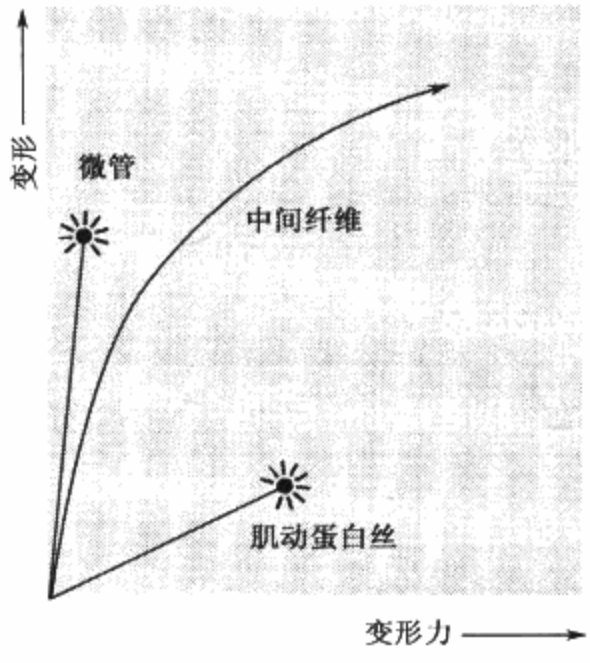


图 16-17　肌动蛋白丝、中间纤维和微管聚合体的机械属性

微管、肌动蛋白丝或由波形蛋白形成的中间纤维，以相同的浓度形成网络系统，并将该网络系统置于黏度计剪力下，测量它们拉伸的强度。结果如图，带有红色放射状头部的表示微管，可以看出当拉力使其长度超过原长 1.5 倍后，微管极易发生形变，并且断裂然后移到各处。肌动蛋白丝较坚硬，因而它们也易断裂。相比之下，中间纤维网络不易变形，而且能够抵抗较大的压力和拉伸力而不发生断裂，因此，它们适合用来维持细胞的完整性

存在的中间纤维的末端。当注射入与形成保守螺旋区域的亚单位的多肽衍生物时，则诱导中间纤维的迅速解聚。这个实验证明了结构的迅速转变。有意思的是，在某些同时含有这三种骨架纤维的细胞中，注射后者能够引起微管和肌动蛋白丝的解聚。这启示我们，在这些细胞中，不同的骨架纤维间存在着共同的机械组装原则。

中间纤维赋予动物细胞机械稳定性

中间纤维有很多种类型，事实上，是因为它们的亚基构型比肌动蛋白丝和微管的亚基有更多的序列上的变异。一个核心的 α 螺旋结构域是由约 40 个 7 次重复结构单元经扭曲延长形成的（图 3-11）。因结构域的 N 端和 C 端球状结构能够变化，所以这个机构域有相似的不同亚型。

不同类型细胞中，有不同类型的中间纤维（表 16-1）。其中，变化最多的就是**角蛋白纤维**（keratin）家族：人上皮细胞中已发现有 20 种不同的类型，10 种以上特异性存在于头发和指甲中。单个上皮细胞中可以存在多种角蛋白纤维，而且它们共同聚合形成一个网络系统（图 16-18）。每条角蛋白丝由等量的Ⅰ型（酸性）和Ⅱ型（中性或碱性）角蛋白链混合物组成。这样就形成了异二聚体，两个异二聚体经连接形成基本的四聚体亚单位（图 16-16）。交联的角蛋白网络系统是通过二硫键连接形成的，甚至在细胞死亡的状态下仍能存在。它们形成动物的坚韧外壳，如在外层的皮肤、头发、指甲、爪、鳞屑里。角蛋白多样性在临床和上皮癌诊断中用处极大，上皮组织中一系列特殊角蛋白的表达可以帮助我们找到癌症的发生地，并指导我们进行治疗方案的选择。

表 16-1　脊椎动物细胞中中间纤维的主要类型

中间纤维类型	多肽构成	细胞定位
核型	核纤层蛋白 A、B、C	核纤层（核被膜的内层）
类波形蛋白型	波形纤维蛋白	许多间充质起源的细胞
	结蛋白	肌肉
	胶质纤维酸性蛋白	胶质细胞（星形胶质细胞和一些神经鞘细胞）
	外周蛋白	一些神经元
上皮型	Ⅰ型角蛋白（酸性）	上皮细胞及其衍生物（如毛发和指甲）
	Ⅱ型角蛋白（碱性）	
轴突型	神经丝蛋白（NF-L、NF-M 和 NF-H）	神经元

角蛋白基因的突变导致一些遗传疾病。例如，缺陷型角蛋白表达于上皮基底层细胞中，

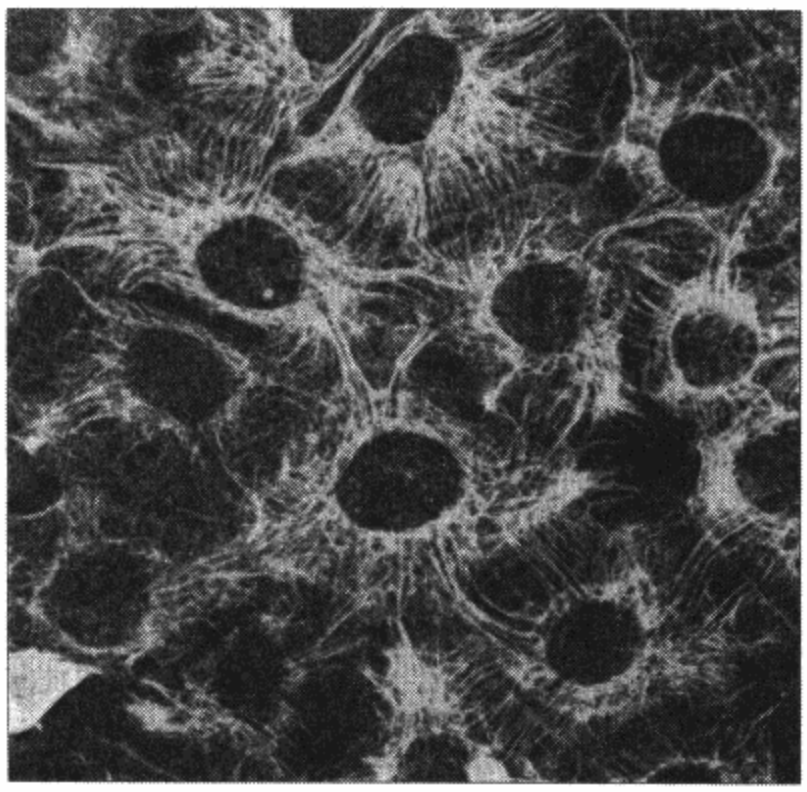


图 16-18　上皮细胞中的角蛋白纤维

培养基中一层上皮细胞内的角蛋白纤维网络（绿色表示）的荧光照片。桥粒连接的两细胞内的纤维并不直接相连（讨论见第 19 章）。被染成蓝色的蛋白质显示了细胞的边界位置

将引起称为单纯性大疱性表皮松解（epidermolysis bullosa simplex）的病症。此时，轻微的机械应激就会导致基底细胞破裂，产生皮肤水疱（图 16-19）。其他类型的发疱病症，包括位于口、食管内壁、眼角膜的发疱病，是由不同的特异性表达于这些组织中的角蛋白突变引起的。这些病症的共同特点就是细胞在机械损伤或角蛋白纤维骨架结构破坏或角蛋白纤维骨架凝聚后发生破裂。导致这些疾病的特异性突变中，多数都发生了中心柱结构域末端的改变。

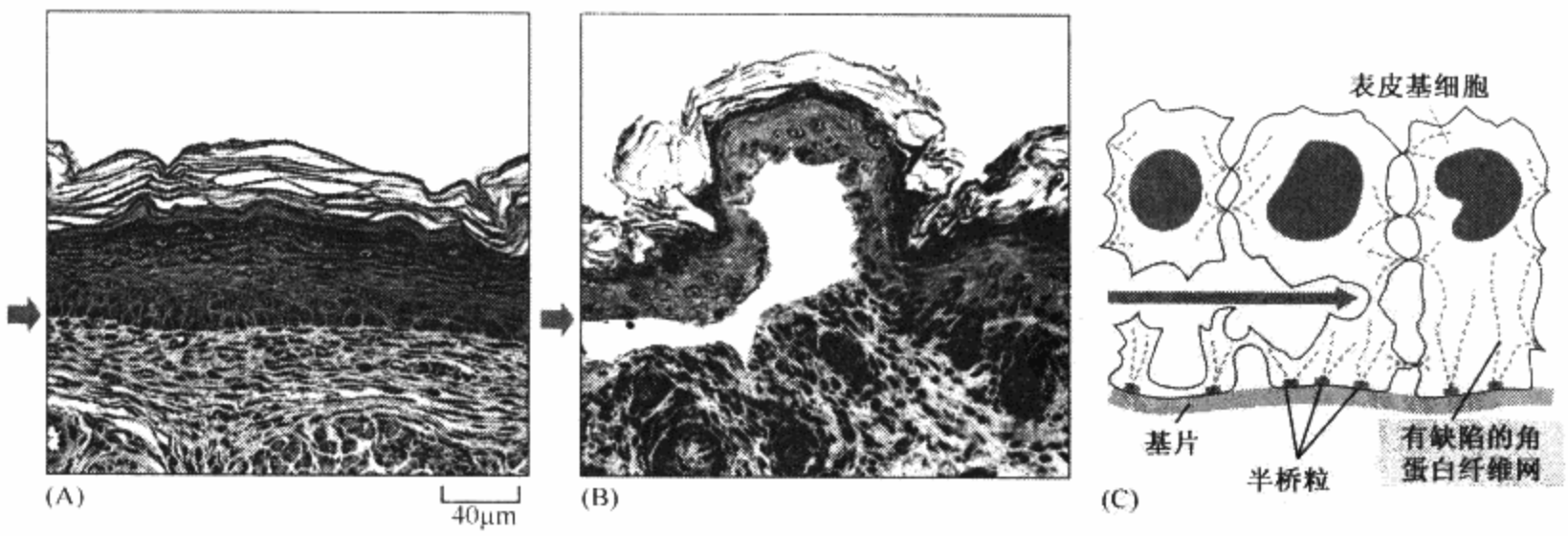


图 16-19　基因突变的角蛋白引起的皮肤疱疹

在转基因小鼠中表达由一种突变基因编码产生的一种截去末端的角蛋白（失去 N 端和 C 端）。这种缺陷型的角蛋白组装到正常的角蛋白上，因此导致了表皮基细胞中的角蛋白纤维网络被破坏。（A）正常皮肤组织横截面的光学显微镜照片。（B）突变后皮肤组织横截面的光学显微镜照片。图中表明，正是突变后的上皮基层细胞的破裂导致了皮肤疱（小红箭头）。（C）在电子显微镜下观察绘制的突变后上皮基底层三个细胞的简略图。如红箭头所示，细胞从核和半桥粒处破裂

这表明蛋白质上这个特殊的部位对纤维的正确装配起重要作用。

中间纤维的第二个家族称为**神经纤维**（neurofilament）。实验发现沿脊椎动物神经元的轴突浓度很高（图 16-20）。在体内（*in vivo*），三种类型的神经纤维蛋白（NF-L、NF-M、NF-H）共同组装，形成包含 NF-L 和另两种中的一种构成的异二聚体。NF-M 和 NF-H 蛋白都有一个冗长的 C 端尾部结构域。这个结构域可以绑定在临近的中间纤维上，使它们以相等的间距对齐排列。在轴突生长过程中，新的中间纤维亚单位全部沿着轴突聚合。这是一个动态的聚合过程，包括亚单位沿纤维伸长的方向聚合，即亚单位组装到纤维末端上。轴突生长并与靶细胞连接后，其直径是原来的 5 倍。神经纤维基因的表达水平似乎直接决定着轴突的直径，而轴突直径的大小又控制着电信号沿轴突传导的速度。

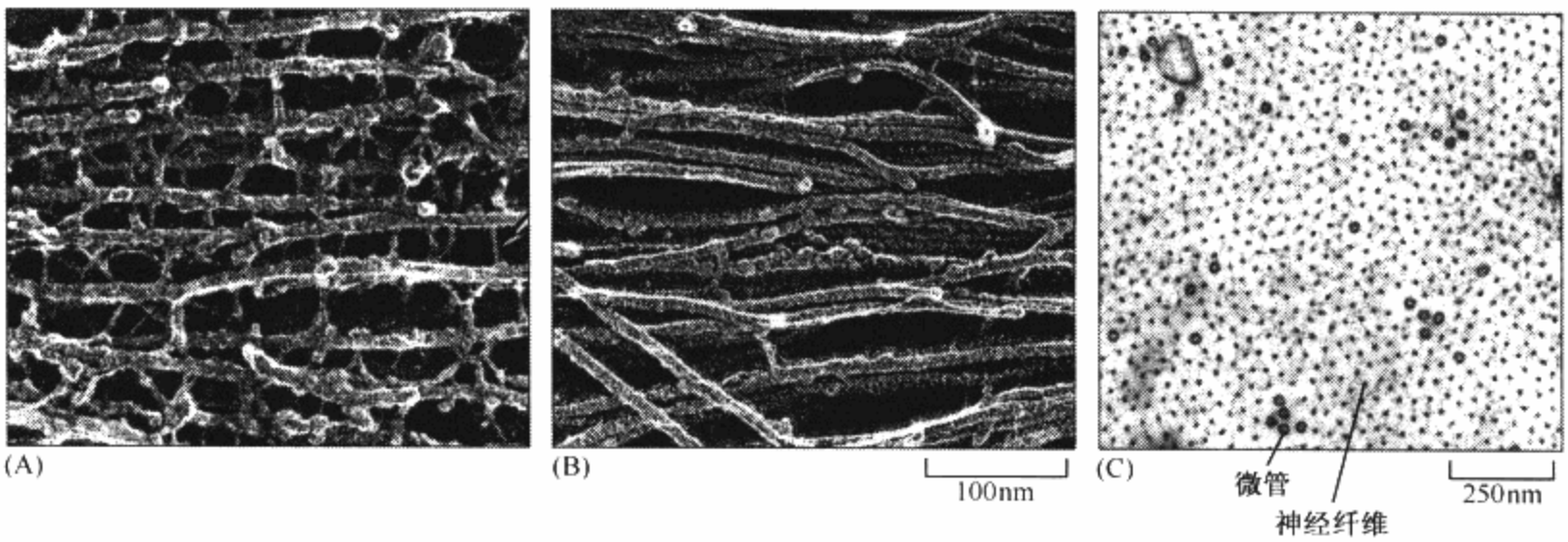


图 16-20　神经系统中，细胞内存在的两类中间纤维

（A）神经细胞中轴突处的神经纤维的冰蚀电镜照片。图中显示，存在着通过蛋白质横桥的而产生的交联，这种排列方式被认为是为了给如此长的细胞提供巨大的抗张强度。巨大的蛋白 NF-H 的 C 端经延长形成长的、非螺旋的横桥。（B）神经胶质细胞中的神经胶质纤维的冰蚀电镜照片。图中显示，这些纤维是平滑的而且几乎没有横桥。（C）轴突横截面的传统的电镜照片。图中显示了相邻神经纤维有规则的间距，而且神经纤维的数目比微管多很多

神经变性疾病肌萎缩性侧索硬化（ALS 或 Gehrig 病）与运动神经元细胞体或轴突处异常组装的中间纤维的累积有关。这种累积可能干扰正常的轴突运输，轴突的恶化通常导致致死性的肌无力和肌萎缩。在小鼠中过量表达 NF-L 或 NF-H，会导致该小鼠患有 ALS 类似的疾病。

波形蛋白纤维是中间纤维的第三个家族。例如，结合蛋白就是该家族成员之一，表达于骨骼、贲门和平滑肌。缺乏结合蛋白的小鼠表现出正常的肌肉发育起始阶段，但成年则有各种各样的肌细胞异常，包括肌纤维不重合。

因此，通常中间纤维被看作细胞的韧带，而微管和肌动蛋白丝则分别被看作细胞的骨架和肌肉。就像我们需要韧带、骨骼和肌肉协同作用一样，三种骨架纤维也必须共同发挥正常的功能，才能供给细胞力量，维持细胞的形状，赋予细胞运动的能力。

药物能够改变纤维的聚合作用

真核细胞的生存依赖于由肌动蛋白和微管蛋白形成的高度保守的细胞骨架纤维的组装与去组装的平衡。然而这两种纤维经常是一些天然毒素的靶目标。这些毒素是植物、真菌或者是海绵在不想被捕食但又不能逃脱捕食者捕食的自卫过程中释放出的。它们通常扰乱纤维的聚合反应。毒素紧紧绑定在纤维或形成聚合体的自由亚单位上，驱动聚合反应倾向于在毒素

绑定位点进行。例如，从海绵（*Lactrunculin magnifica*）中提取出来的药物拉春库林（lactrunculin），与肌动蛋白丝结合，并使之稳定，从而导致肌动蛋白丝只发生解聚作用。与之相反，鬼笔环肽（phalloidin）[来自真菌鬼笔鹅膏（*Amanita phalloides*）]，绑定并稳定肌动蛋白丝，导致只增加肌动蛋白而发生聚合作用（一种针对于伞形毒菌毒蕈中毒的药物就是吃大量的生肉，这是因为肌肉组织中的肌动蛋白丝浓度很高，其与鬼笔环肽绑定，就降低了鬼笔环肽的毒性）。肌动蛋白丝任何改变对于细胞来说都有毒害作用。类似地，秋水仙素（colchicine）[来源于草甸藏红花（或成熟藏红花）]，绑定并稳定游离的微管蛋白，导致微管的解聚。相反，紫杉酚（taxol）（从一种紫杉树的稀有种的树皮中提取出来的），绑定并稳定微管，导致只增加微管蛋白而发生聚合作用。表 16-2 是细胞生物学家常用的操作骨架纤维的一些天然产物的列表。

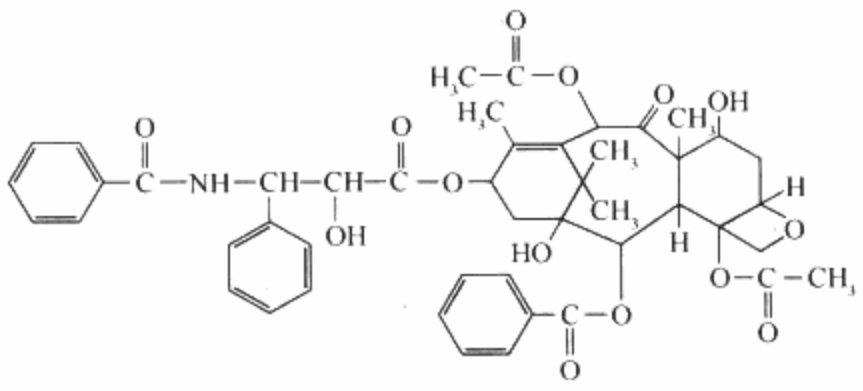
表 16-2　影响肌动蛋白纤维和微管的药物

肌动蛋白特异性药物	
鬼笔环肽	结合并稳定纤维
松胞素	加在纤维的正端
Swinholide	切断纤维
拉春库林	与亚单位结合，并阻止其聚合
微管特异性药物	
紫杉酚	结合并稳定微管
秋水仙碱、秋水仙胺	与亚单位结合，并阻止其聚合
长春碱、长春新碱	与亚单位结合，并阻止其聚合
诺考达唑	与亚单位结合，并阻止其聚合

在活细胞中，上面这些药物能够迅速地对细胞骨架的组织产生极大的影响（图 16-21）。亚单位处于结合态和游离态的迅速互变中，它们能够维持这种迅速、连续的变化，证明亚单位游动是正常骨架纤维功能所必需的，为骨架纤维的动态的结构提供了早期证据。

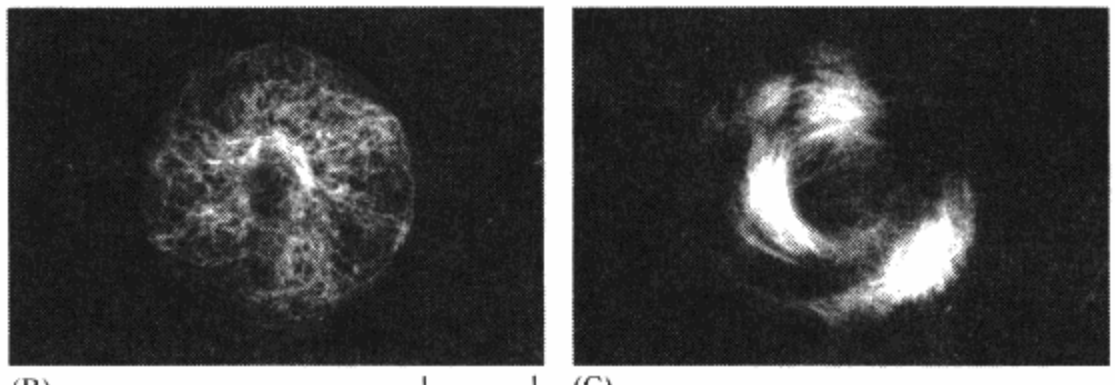
表 16-2 中列出的药物广泛应用于对细胞生物学家研究各种细胞突中肌动蛋白和微管蛋白的作用。其中的一些也用于癌症治疗。使微管解聚的药物（如长春碱）和使微管聚合的药物（如紫杉酚）都优先杀死正在分裂的细胞，因为微管的组装与解聚对有丝分裂纺锤体正确的功能起决定性作用（讨论见第 18 章）。这些药物能有效地杀死癌症患者的某种类型的癌细胞，但它们对迅速分裂的正常细胞也有毒害作用，包括骨髓、肠、头发毛囊细胞。紫杉酚尤其被广泛用于治疗某些对其他化学治疗剂有抵抗作用的特殊的癌症。

实验室中常用来分离不同大小的蛋白质和核酸的聚丙烯酰胺凝胶的前体丙烯酰胺（图 8-14），也是一种骨架纤维毒素。它能使中间纤维网络解聚或重排，但机制还不清楚。它能够被皮肤吸收并分解外周神经元轴突处的神经纤维束，是一种很强的神经毒素。因此当皮肤接触到丙烯酰胺后产生令人不愉快的刺痛感，在操作丙烯酰胺时一定要小心谨慎。



(A)

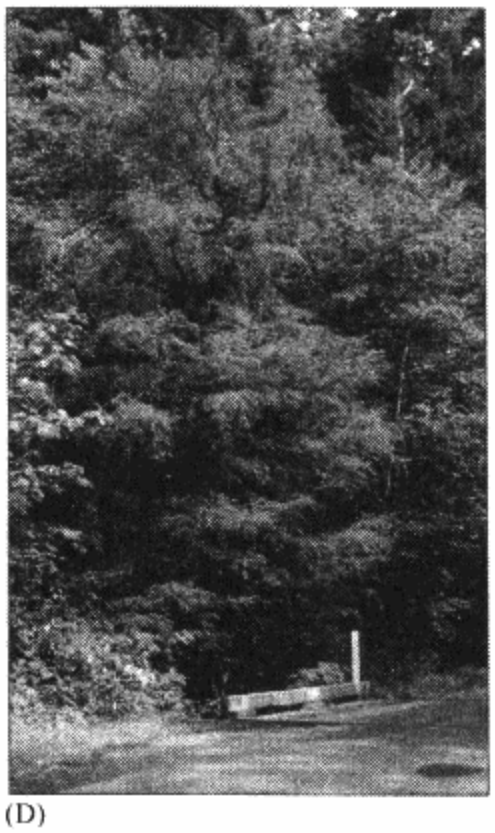
紫杉酚



(B)

15μm

(C)



(D)

图 16-21　药物紫杉酚对微管组织的作用

（A）紫杉酚的分子结构。如今，有机化学家们已经成功地合成了这种复杂的分子，并广泛应用于癌症治疗中。（B）加入紫杉酚前，肝上皮细胞中的微管组织的荧光显微镜照片。（C）同样的肝上皮细胞，经紫杉酚处理后，细胞内微管组织的荧光显微镜照片。从图中可以看出，微管沿上皮细胞四周边缘聚集成束。（D）太平洋的紫杉树，紫杉酚的天然来源

小结

真核细胞通过一个蛋白质纤维网络系统对其细胞质进行空间上的组织，这个网络系统称为骨架纤维。它主要包括三种类型的纤维：微管、肌动蛋白丝和中间纤维。这三种纤维都是它们的亚单位以螺旋的方式组装形成的。亚单位间通过蛋白质的头尾和旁侧相连。亚单位结构和自组装方式的不同赋予了纤维不同的机械属性。绳样的中间纤维易于弯曲、很难断裂。微管则为坚固、硬质的中空管状结构。肌动蛋白丝是这三种中最脆弱的，不能拉伸且极易断裂。

在活细胞中，这三种骨架纤维的亚单位处于组装和解聚的动态变化中，因而它们也处于不断地重塑中。微管和肌动蛋白丝仅在它们的末端加上或失去亚单位（微管和肌动蛋白丝也有各自不同的亚单位），而且一个末端（正端）比另一个末端生长快。微管蛋白和肌动蛋白绑定并能水解核苷三磷酸（微管蛋白绑定 GTP，肌动蛋白绑定 ATP）。核苷酸的水解是这两种纤维动态行为特征的基础。细胞中，肌动蛋白丝以踏车为主，即纤维一端组装，另一端同步去组装；微管以动态不稳定为主，即微管末端处于生长和收缩的交替中。

相比而言，在真核生物进化过程中，微管蛋白和肌动蛋白有较高的保守性，而中间纤维家族变化较大。它们有许多种组织特异的形式，包括上皮细胞中的角蛋白纤维、神经细胞中的神经纤维、肌肉细胞中的结蛋白纤维。在这些细胞中，中间纤维的主要功能就是为细胞提供机械强度。

细胞对骨架纤维的调控机制

微管、肌动蛋白丝和中间纤维在细胞中比在试管里呈现更大的动态性。细胞调控骨架纤维的长度和稳定性，同时也调控它们的数量和几何形状。这种调控多数是通过它们与另外一

个或与细胞内其他组分的连接实现的，这样，骨架纤维就能够形成多种高级构造。某些纤维的属性是直接通过纤维亚单位上的共价修饰进行调控的，但大部分调控作用是由绑定在纤维或它们的游离亚单位上的辅助蛋白完成的。

这部分重点在辅助蛋白是如何改变骨架纤维的动力学和结构。开头将讨论微管和肌动蛋白丝在细胞中是如何成核的，因为它们在细胞内所有的结构组织中起主要的作用。

微管通过一个含有γ微管蛋白的蛋白质复合体成核

α和β微管蛋白是微管的基本组成单位，而另一种类型的微管蛋白，称作γ微管蛋白，它有着特殊的作用。γ微管蛋白在细胞中比α和β微管蛋白少，从酵母到人类，它都参与了微管的成核过程。通常，微管成核始于一个细胞内特异位点，称作**微管组织中心**（microtubule-organizing center，MTOC），可以通过γ微管蛋白抗体标记各个物种和各种类型细胞的MTOC得以验证。

微管在它们的负端处成核，然后正端从微管组织中心向外生长，形成不同排列方式的各种微管。从昆虫和脊椎动物细胞中分离得到的**γ微管蛋白环复合体**（γ-tubulin ring complex，γ-TuRC），是试管中微管生长的有效成核剂。从酵母到人类都高度保守的两个蛋白质α和β直接绑定在γ微管蛋白上，并在其他蛋白质的帮助下形成环。该环可被视为通过γ-TuRC形成核的微管的负端。因此，由γ微管蛋白形成的这个环被认为用作使13条原纤维组成的微管成核的模板（图16-22）。

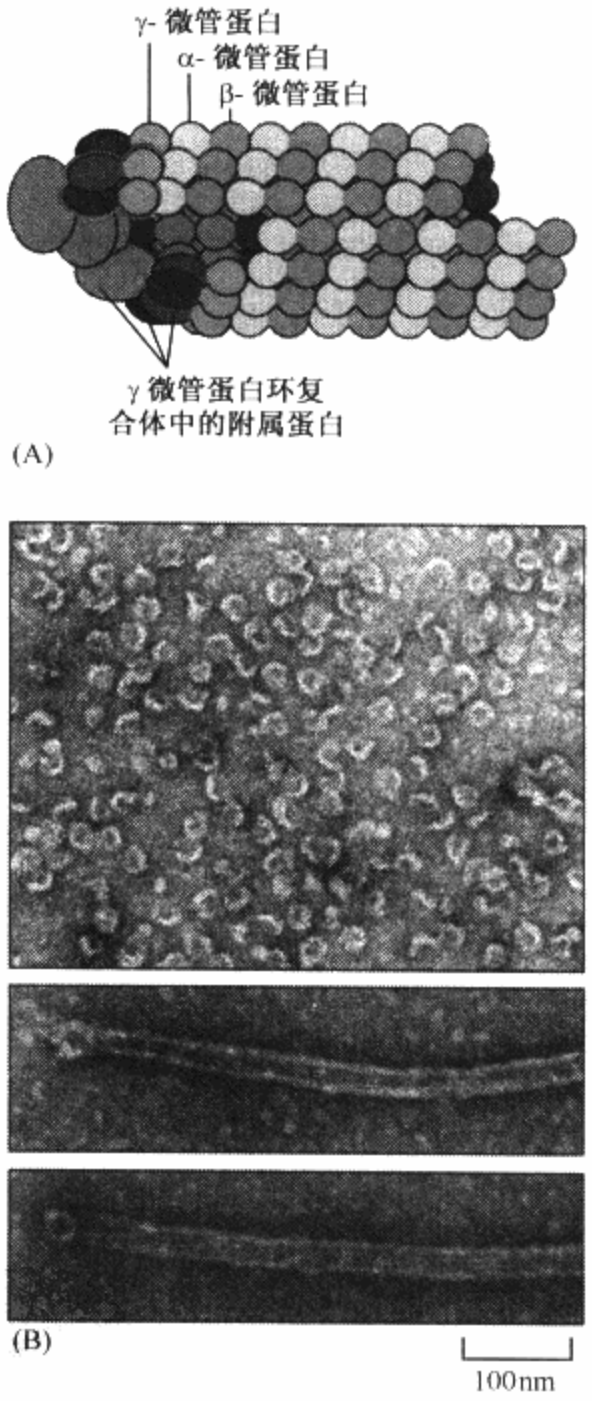


图16-22　γ微管蛋白环复合体为微管的聚合作用提供核

（A）通过γ微管蛋白环复合体微管生长成核的模型。红色轮廓的表示一对绑定在两分子γ微管蛋白上的蛋白质。这个簇族能够被作为整个环的独立亚单位分离出来。（B）上面的是纯化的γ微管蛋白环复合体；中间和下面的是具有由γ微管蛋白环复合体形成的核的单个微管

动物细胞中，微管源于中心体

大多数动物细胞的核附近都有一个清晰的MTOC，称作**中心体**（centrosome）。以这点为中心，胞质微小管向外发散形成星状构象。微管在中心体处成核，位于中心体处的一端是微管的负端，正端指向背离负端的方向并朝细胞外周的方向生长。一个中心体由一个包含50多个γ-TuRC拷贝的纤维状的中心体基质组成。组成基质的蛋白质中多数还是未知的，而且也不知道它们是如何被招募并激活γ-TuRC的。

中心体内有一对圆柱状的结构，两者互相垂直排列形成L形构象（图16-23），它们称作**中心粒**（centriol），在游动细胞中形成纤毛和鞭毛的基底（稍后讨论）。中心粒组织中心体基质（也称中心粒周围基质），以保证在每次细胞分裂周期中它能够随中心体的自我复制而完成复制。正如第18章所述，在分裂间期相，中心体复制并分成相等的两半，每半含有一对中心粒（图18-6）。有丝分裂开始，这两个子代中心体从核处朝相反的方向移动，

然后形成有丝分裂纺锤体的两极（图 18-7）。一个中心粒包含一个短的经过修饰的圆柱形微管和大量的辅助蛋白（图 16-24）。它复制的分子基础还不清楚。

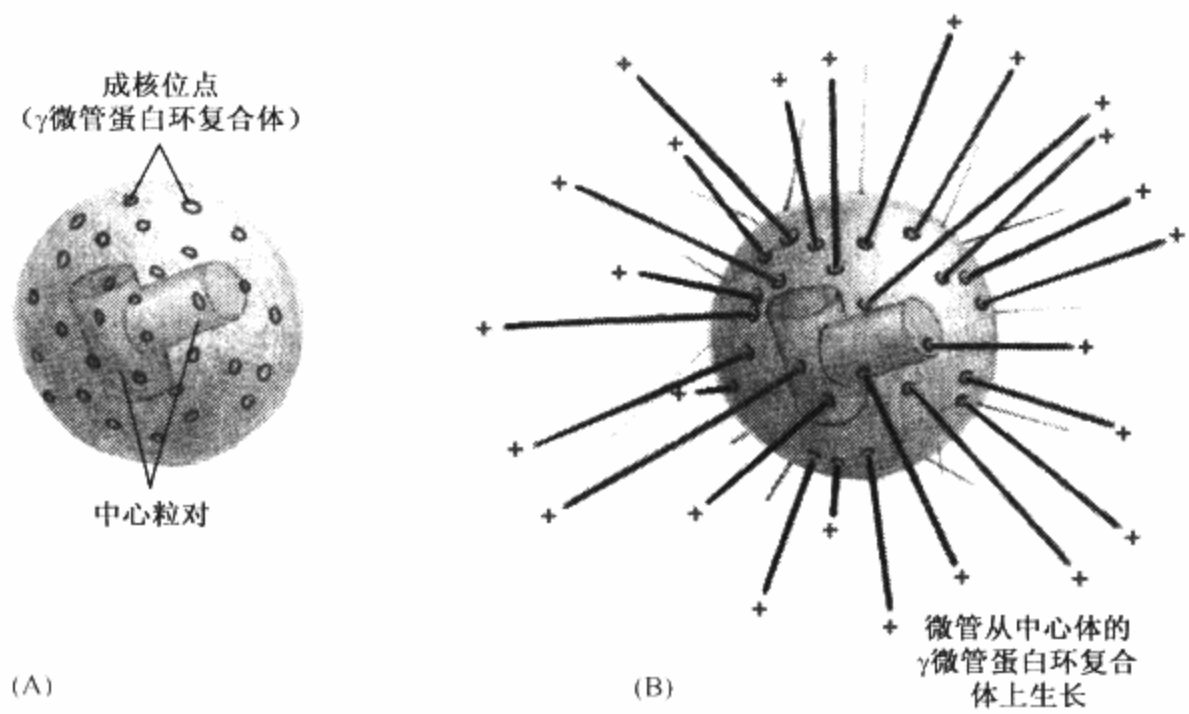


图 16-23　中心体

（A）动物细胞中，中心体是主要的 MTOC。它位于紧靠核的胞质中，由蛋白质形成的无定形的基质组成。蛋白质中包含有 γ 微管蛋白环复合体，它使微管生长成核。该基质像书中所述那样有一对中心粒组织。（B）中心体和相连的微管。每个微管的负端埋在中心体内，并从 γ 微管蛋白环复合体处开始生长，微管正端则游离在胞质中

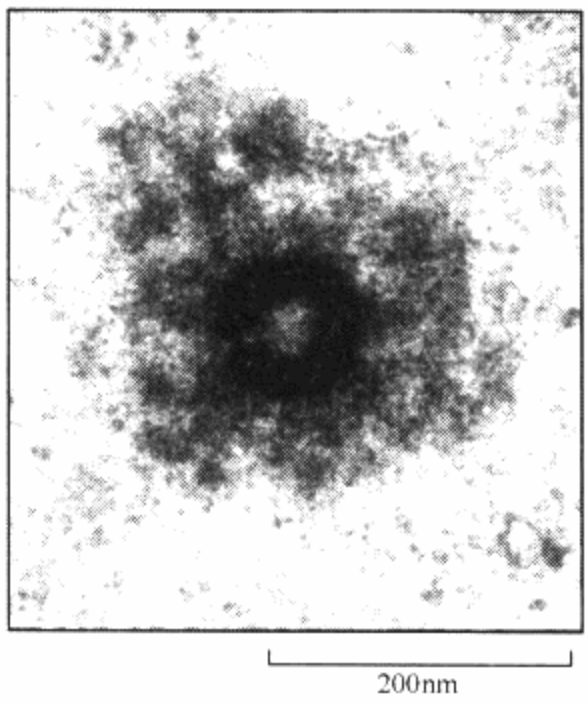


图 16-24　中心体中的一个中心粒

示意一个中心粒端点的中心体厚切面图的电子显微镜照片。图中可以看到中心粒的经修饰的微管的环，它被纤维状的中心体基质包围（经 P. Witt 和 G. G. Borisy 许可）

在真菌和藻类中，微管在 MTOC 处成核，该 MTOC 嵌入到核膜中形成一个小空斑，称作纺锤极。高等植物细胞微管成核的位点分布于核膜四周。然而，真菌和多数植物细胞中都没有中心粒。尽管存在这么多差异，但所有细胞都含有 γ 微管蛋白并且利用它使微管成核。

在动物细胞中，微管的星形构象非常稳定，动态的正端朝外指向细胞外周，稳定的负端汇集在核的附近。微管从中心体发出形成的系统充当着细胞检测远处区域和定位中心体为细胞中央的装置。在人工封闭区中依然如此（图 16-25）。甚至在一个缺乏中心体的分离细胞碎片中，动态的微管与膜状细胞器之间相互作用，而且动力蛋白在中央的成簇的微管负端处排列呈星状（图 16-26）。微管骨架这种寻找细胞中心的能力为细胞建立了一个坐标系，细胞通过使用这个坐标系定位胞内众多的细胞器。

肌动蛋白丝通常在质膜处成核

微管成核主要发生在细胞质深处细胞核附近。与微管的成核相比，肌动蛋白丝的成核通常发生在质膜处（图 16-27）。因此，多数细胞的边缘有高密度的肌动蛋白纤维。这些位于质膜下的一层肌动蛋白丝称作**细胞皮质**（cell cortex）。它决定了细胞表面的形状和运动。例如，肌动蛋白丝依靠它们之间和它们与质膜间的连接形成了许多种不同类型的细胞表面突起，包括尖的束状结构

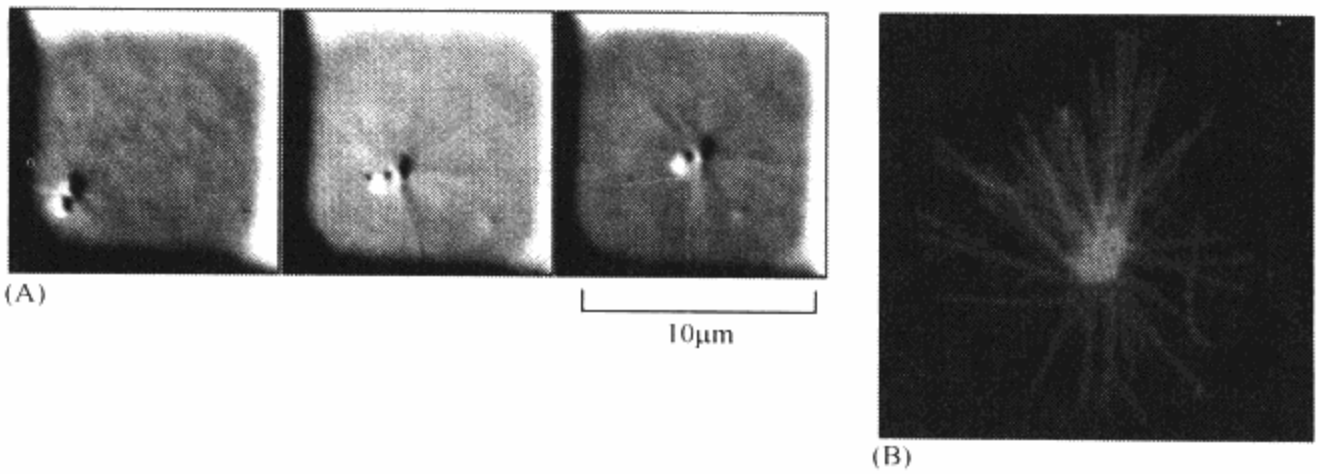


图 16-25　中心体探寻中心的行为

（A）塑料基底上用微型机打上小的方形孔。将一个中心体随同溶液中的微管蛋白一起放入其中的一个孔中。由于中心体使微管成核，它开始聚合，并推压孔壁。位置固定的情况下，要想使中心体位于孔中央需要各个方向的推力相等。三张图片是每隔 3min 拍摄的。（B）一个类似的自我为中心的中心体，经固定染色后，显示出推压封闭墙的微管在封闭区四面墙上的分布

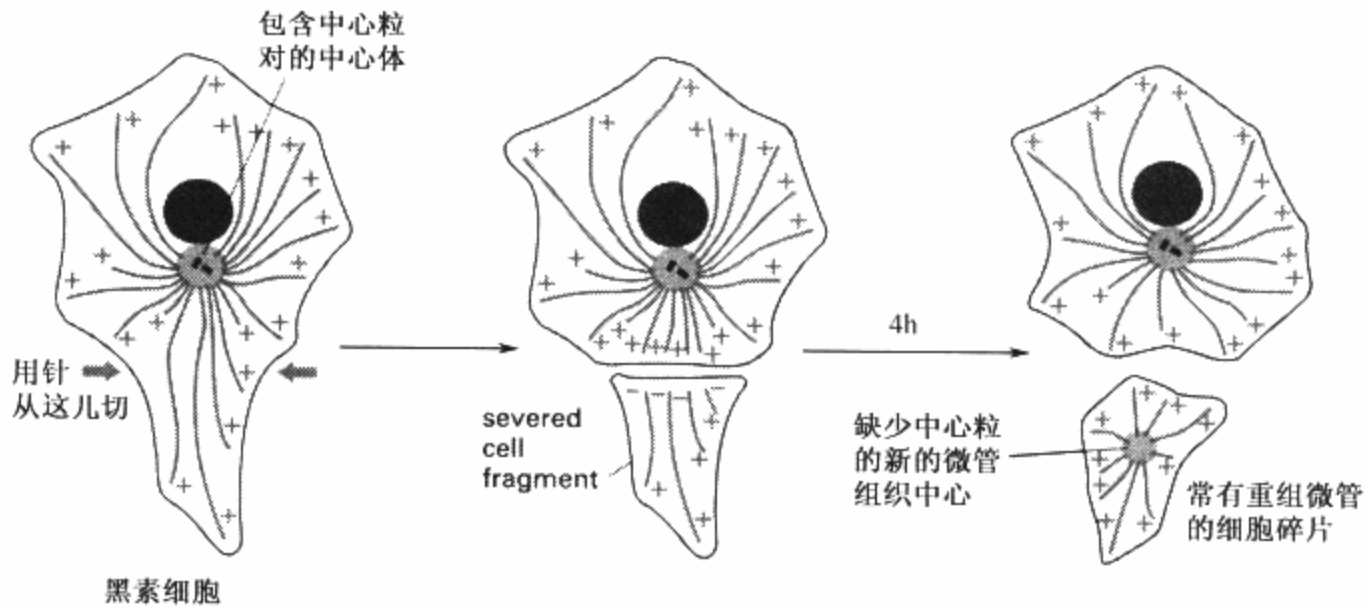
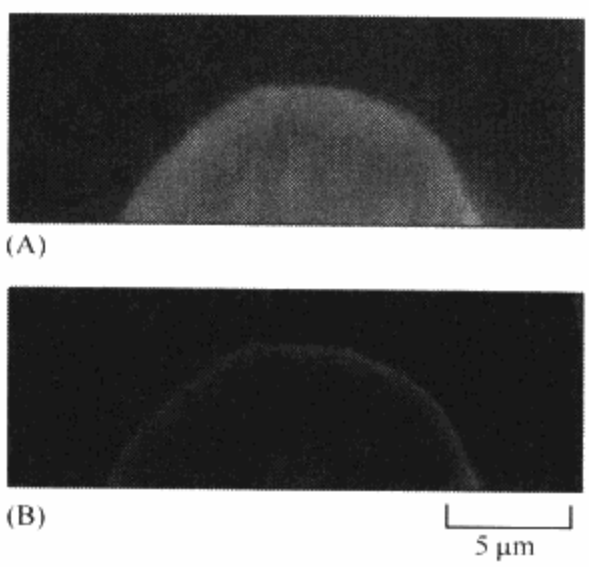


图 16-26　一个微管系就能寻找细胞的中心

用注射针切掉鱼色素细胞的一角，被切下的部分中的微管重新组织，它们的负端聚集在这部分的中央，埋在一个新的微管组织中心内

图 16-27　细胞尖端前沿处的肌动蛋白丝成核

用非离子化去污剂轻微透化处理培养的成纤维细胞，然后在含有罗丹明标记的肌动蛋白分子中孵育，直到能够看到新近形成的肌动蛋白纤维（红色）。5min 后，将细胞固定并用荧光素标记的鬼笔环肽染色，染出所有的肌动蛋白丝（绿色）。（A）所有的肌动蛋白丝（绿色）。其中多数形成于细胞透化处理前。（B）新形成的肌动蛋白丝的位置（红色）。表明细胞内前沿是肌动蛋白丝装配的主要位点。进一步研究表明这是因为新形成的肌动蛋白纤维在该位点不断地成核



如微绒毛或线状伪足，扁平的用来帮助细胞在光滑表面移动的突出假托板状伪足以及吞噬细胞的吞噬杯（phagocytic cup）。

肌动蛋白丝在质膜处的成核作用通常受到外部信号的调控，使细胞能够迅速改变形状和韧度以应答外界环境的变化。成核过程由一个蛋白质复合体催化，该复合体包括两个肌动蛋白相关蛋白质或 ARP，它们中的每个与肌动蛋白有 45% 的相似性。ARP 复合体（也作 Arp 2/3 复合体）的功能与 γ-TuRC 类似，使肌动蛋白从负端生长成核，从正端迅速延长。这个复合体也能连接到另一个肌动蛋白丝的侧面，同时余下的部分绑定肌动蛋白丝的负端使之成核。这样，就使单个的肌动蛋白丝连接在一起形成树状网络（图 16-28）。ARP 复合体定位在

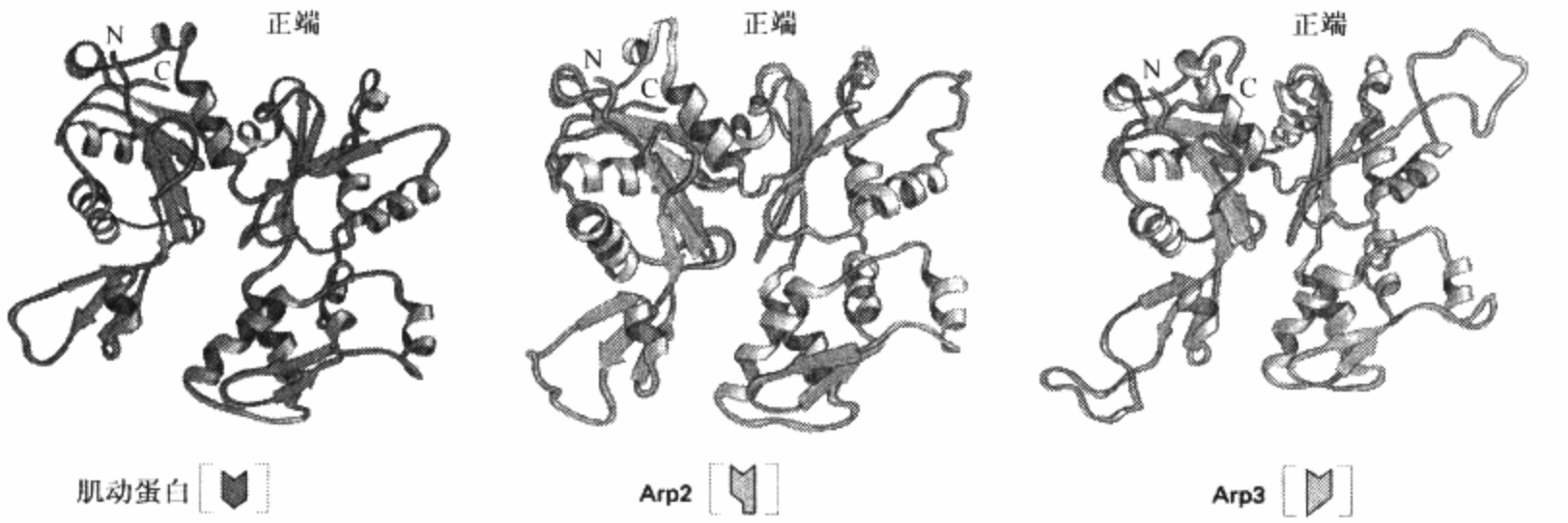


图 16-28　ARP 复合体介导的成核过程和肌动蛋白网络的形成

（A）Arp2 和 Arp3 与肌动蛋白的结构比较。尽管 Arp2 和 Arp3 的正端（顶部）形状与肌动蛋白的相似，但另一侧负端（底部）的不同阻止了这些肌动蛋白相关蛋白质自己形成纤维或与肌动蛋白连接形成纤维。（B）ARP 复合体介导的肌动蛋白丝成核的模型。Arp2 和 Arp3 可能在它们的辅助蛋白的作用下保持一定的方向，这样就类似于肌动蛋白丝的正端。然后肌动蛋白亚单位就能组装到这个结构上，通过纤维成核的限速步骤（图 16-5）。（C）当 ARP 复合体绑定于预先形成的肌动蛋白丝的侧面时，它将更有效地使纤维成核。这就导致形成了与原纤维夹角为 70°的纤维支。重复这种分支的成核过程导致形成了树状的肌动蛋白丝网络。（D）分支的肌动蛋白丝的电子显微镜照片。其中的肌动蛋白丝是由纯化的肌动蛋白亚单位和纯化的 ARP 复合体的混合物形成的

肌动蛋白丝迅速生长的区域（如板状伪足），并且它的成核活性受细胞内质膜胞质面处的信号分子和部件的调控。

γ微管蛋白和ARP都是从远古进化而来，并且它们在许多真核生物中是保守的。它们的基因似乎是早期通过微管或肌动蛋白丝亚单位的基因的重复产生，因此，它们编码的蛋白质都有这种特殊的成核功能。两种不同的细胞骨架系统采用了相似的战略产生变体，这强调了受调控的纤维成核过程的重要性，它是细胞内基本的组织原则。

纤维的延长受游离亚单位结合蛋白的限制

通常细胞骨架纤维一经成核，就通过加上游离的亚单位而延长。在脊椎动物的非肌肉细胞里，大约50%的肌动蛋白在纤维中，50%的肌动蛋白是游离的。典型的游离单体的浓度为50～200μmol/L（2～8mg/ml），与试管中观测到的纯的肌动蛋白的临界浓度（小于1μmol/L）相比，高出很多。为什么这些游离的肌动蛋白不聚合成纤维呢？原因是在这个亚单位过剩的库中含有特殊的蛋白质，它们与肌动蛋白单体绑定，使它们很不易聚合。在一个锁定的状态下，肌动蛋白与胸腺肽绑定，这时它们不能与肌动蛋白丝的任一端（不论是负端还是正端）连接，也就不能水解或改变与它们绑定的核苷酸了。

细胞如何从这个隐蔽的库中招募肌动蛋白单体用于聚合呢？一种可能的猜测是胸腺肽受信号转导通路的调控，但还没有发现基于这种情况的例子。取而代之的是认为招募作用依靠另一种单体绑定蛋白，抑制蛋白（profilin）。该蛋白质绑定在ATP结合裂隙的反面，封闭了通常情况下与纤维负端连接的那侧（图16-29）。一旦加和作用出现，诱导肌动蛋白单体发生构象变化，降低了与抑制蛋白的亲和力，使抑制蛋白从单体上脱落下来，同时单体加到肌动蛋白丝末端使肌动蛋白丝延长一个亚单位长度。抑制蛋白和胸腺肽竞争结合肌动蛋白单体，一部分激活的抑制蛋白将肌动蛋白亚单位从隐蔽的胸腺肽限制的库中移到纤维负端（图16-30）。

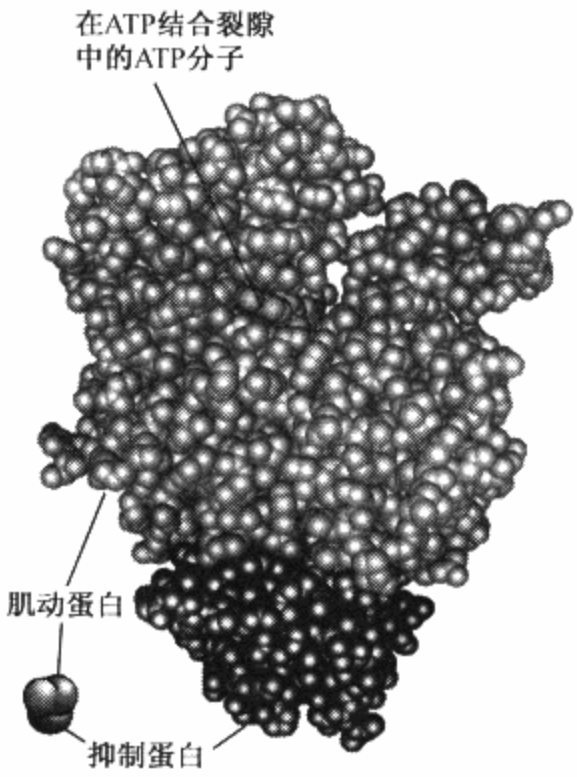
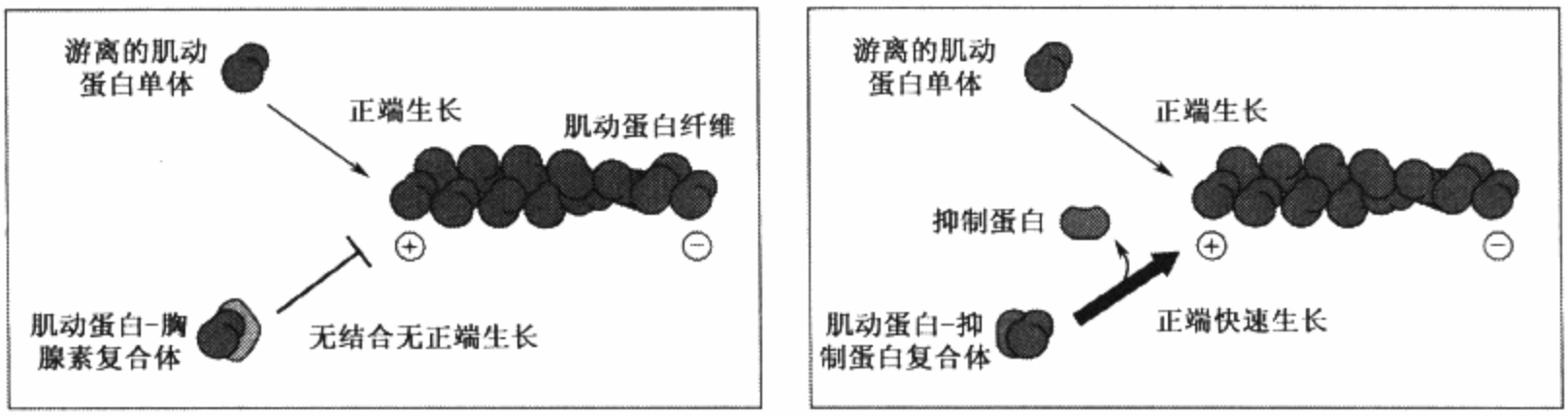


图16-29　抑制蛋白与一个肌动蛋白单体结合

蓝色的为抑制蛋白分子，红色的为肌动蛋白单体，绿色的为ATP。抑制蛋白绑定于ATP结合裂隙的反面。这种抑制蛋白-肌动蛋白异源二聚体能够结合到正在延伸的肌动蛋白丝的正端，立体空间阻碍其与负端结合

细胞内有几种调控抑制蛋白活性的机制，包括抑制蛋白的磷酸化和抑制蛋白与肌醇磷脂的结合。这些机制能解释抑制蛋白的作用位置。例如，抑制蛋白能够移动隐蔽的肌动蛋白亚单位到纤维的生长端，这对纤维在质膜处的组装非常重要。抑制蛋白被集中在质膜的胞质溶胶一侧，是因为它与那里的酸性膜磷脂结合。位于此时，胞外信号能够引起产生暴发的局部的肌动蛋白聚合作用，以及引起富含肌动蛋白的能动结构，如丝状伪足和板状伪足的伸展（见下面）。除了与肌动蛋白和磷脂类结合，抑制蛋白还能与胞内其他不同的富含脯氨酸结构域的蛋白质结合。这种结合可能对将抑制蛋白集中到必须迅速装配肌动蛋白的位点上起帮助作用。

与肌动蛋白单体类似，没有聚合的微管蛋白亚单位隐蔽在细胞内以将亚单位库维持在一个实际浓度高于临界浓度的水平上。一分子的一种19kDa磷蛋白（stathmin）结合于两个微管蛋白异源二聚体上，阻止它们加到微管的末端上。因此，



抑制蛋白与胸腺素竞争与肌动蛋白单体结合并促进组合

图 16-30　胸腺肽和抑制蛋白对肌动蛋白聚合作用的影响

一个肌动蛋白单体与胸腺肽结合后，立体空间上阻碍了其与肌动蛋白丝延长的正端的结合。而另一方面，一个肌动蛋白与抑制蛋白结合，使该肌动蛋白具有延伸纤维的能力。胸腺肽和抑制蛋白不能同时结合到同一个肌动蛋白单体上。细胞内，多数的肌动蛋白单体与胸腺肽结合，少量的抑制蛋白的活化就能够加速纤维的组装。如图中所示，抑制蛋白与从胸腺肽绑定单体库中短暂释放出的肌动蛋白单体结合，将它们穿梭移动到肌动蛋白丝的正端，然后再释放，再循环，准备进行下一次结合

这种小分子蛋白质（stathmin）降低了能够用于聚合作用的微管亚单位的有效浓度（类似于肌动蛋白的秋水仙素）。当细胞内的 stathmin 处于高活性水平时，将降低微管的延伸速率。因为延伸速率由可用于合成的微管亚单位的浓度和速率常数 k_{on} 决定。同时，缓慢的延伸速率产生了一个显著的副作用。对于微管来说生长状态和缩短状态的转变经历了依靠 GTP 水解和纤维延伸的比例产生的动态不稳定，故隐蔽的微管蛋白亚单位造成的缓慢的延伸速率能够增加微管缩短的频率。因此，活细胞内一个微管聚合抑制蛋白能够引起一个副作用，显著地增加微管的动态转变（图 16-31）。

stathmin 的磷酸化能够抑制它与微管蛋白的结合，同时，导致 stahmin 磷酸化的信号也能够使微管延伸速率增加并且抑制动态不稳定。

结合在纤维旁侧的蛋白质既能稳定它们，也能使它们不稳定

细胞骨架纤维形成后，它们的稳定性和机械属性通常能被结合在它们旁侧的蛋白质改变。不同的纤维结合蛋白通过利用它们的结合能既能降低又能升高聚合体状态的自由能，因此，

图 16-31　stathmin 对微管聚合作用的影响

游离的微管蛋白亚单位聚合形成微管的反应是能量。只要可用于聚合的游离微管亚单位足够，微管延伸就会继续下去。每个 stathmin 分子结合两个微管异源二聚体。随着库中游离亚单位的减少，微管延伸变慢。这使 GTP 水解的速度有可能赶上亚单位增加的速度，最终失去了 GTP 帽，微管从生长的状态转变为缩短的状态。stathmin 的第二个作用就是通过直接与微管正端相互作用促进这种转变。stathmin 又称作“癌蛋白 18”，因为，在癌细胞中它的表达水平增高，导致增加了微管的转变

它们分别能稳定聚合体或使聚合体变得更不稳定。

结合到微管侧面的蛋白质共同称为**微管结合蛋白**（microtubule-associated protein）或 MAP。类似于药物紫杉酚，MAP 能够使微管稳定而不解聚。在神经细胞中，这种情况占主导地位，稳定由细胞体延伸至轴突和树突中央的微管束（图 16-32）。这些 MAP 至少有一个结构域与微管表面相结合而另一个朝外侧突出。这个突出的结构域的长度决定了带有 MAP 的微管能包装得多近，同时指示细胞过量表达不同的 MAP。细胞过量表达 MAP2，它有一个突出的结构域，使微管形成间距较宽的稳定的微管束；而当细胞过量表达 tau 时，它的突出结构域较短，形成包装较近的微管束（图 16-33）。

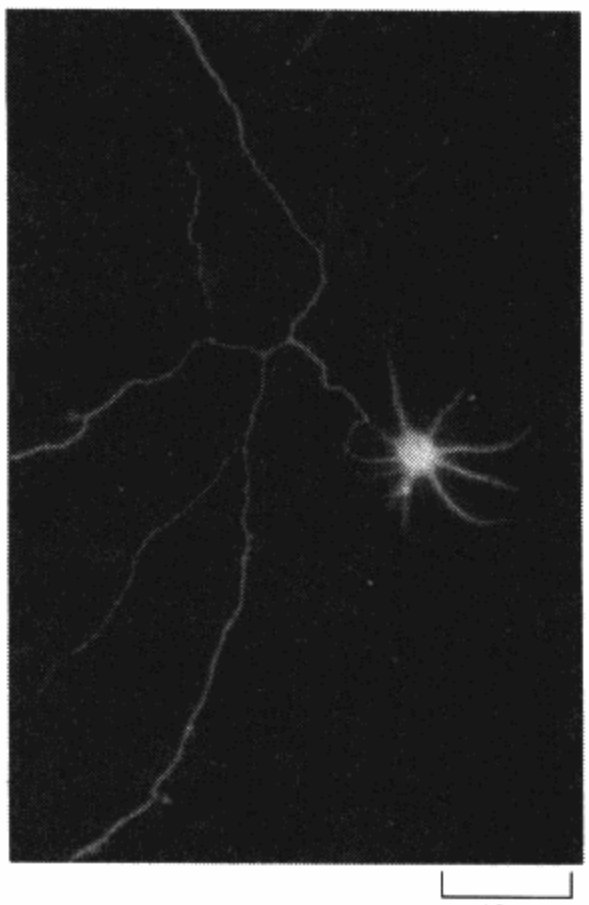


图 16-32　神经元轴突和树突中的 MAP 的定位

这张荧光显微镜照片显示了细胞培养的海马神经元中的 tau（绿色）和 MAP2（红色）的分布。图中可以看出，tau 局限在轴突处（神经元上长的树枝状是轴突），MAP2 存在于细胞本体和它的树突中

切丝蛋白一些 MAP 上与微管结合的结构域，包括 tau 和 MAP2，都含有与微管结合的超二级结构域的多个拷贝。当这样的 MAP 与游离的纯化的微管蛋白结合后，它们很大程度上加速了成核作用，很可能是因为它们使早期聚合作用中形成的小的微管寡聚体稳定。MAP 是许多蛋白酶的靶蛋白，MAP 的磷酸化在调控它的活性和细胞内定位中起主要作用。

然而，脊椎动物中 MAP2 和 tau 选择性地存在于一些细胞类型中。对于几乎全部的真核细胞来说，其他 MAP 在微管动态性上似乎起着重要的作用，尤其是称作 XMAP215 的蛋白质（一种普遍存在的蛋白质）。从酵母到人类都有它的同系物（XMAP 代表非洲蟾蜍属的微管相关蛋白，数字表示它的分子质量）。该蛋白质结合于微管的侧面，但它还有一个特殊的能力，即能稳定游离的微管末端并且抑制它们由生长状态向缩短状态转换，随后我们将对此进行讨论。有丝分裂时，XMAP215 的磷酸化抑制了它的活性，正如我们在有丝分裂期间观察到的那样，这将促使微管的动态不稳定性增加 10 倍（图 18-12）。

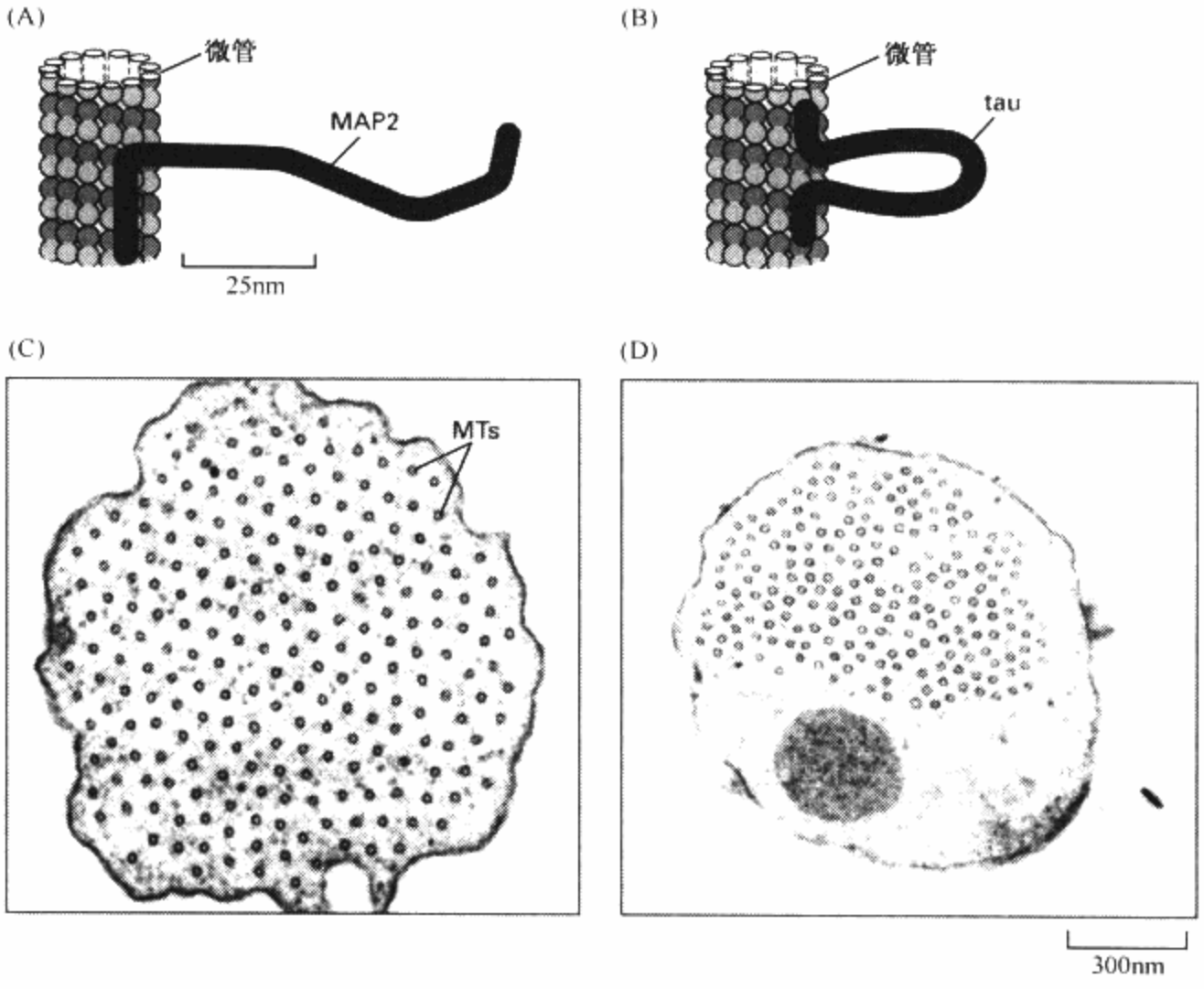


图 16-33　MAP 介导的微管束的构建

（A）MAP2 的一端沿着微管晶格结合并延伸出一个长的突出臂，突出臂这端带有第二个微管结合结构域。（B）tau 同时与微管晶格的 N 端和 C 端相结合，形成一个短小的突出环。（C）过量表达 MAP2 的细胞中，微管束横切面的电镜照片。微管束中微管间规律的间隔是 MAP2 突出臂长度恒定的结果。（D）过量表达 tau 的细胞中，微管束横切面的电镜照片。与图（C）类似，但这幅图中微管间距比图（C）中的更近，因为 tau 的突出臂相对来说较短

肌动蛋白丝也同样受到结合在它们侧面的辅助蛋白的巨大影响。在多数细胞中，原肌凝蛋白选择性地与肌动蛋白丝结合。它是一种狭长的蛋白质，同时与一个原纤维上的 7 个相邻的肌动蛋白亚单位结合。沿着肌动蛋白丝结合的原肌凝蛋白能够阻止该丝与其他蛋白质的相互作用；因为这个原因，对肌凝蛋白结合的调控是肌肉收缩过程的重要步骤，我们将在下面讨论（图 16-74）。

另一个重要的肌动蛋白丝结合蛋白就是切丝蛋白（cofilin）存在于所有真核生物细胞中，它使肌动蛋白丝不稳定。切丝蛋白也称作肌动蛋白解聚因子，不论是结合成纤维的形式还是游离亚单位的形式，通常不与肌动蛋白结合。切丝蛋白沿着肌动蛋白丝纵轴与之结合，迫使纤维扭曲更紧密（图 16-34）。这种机械应激减弱了丝上肌动蛋白亚单位间的连接，使纤维变得脆而易断裂。而且，它使 ADP 肌动蛋白亚单位更易从丝的负端分离下来。通常，肌动蛋白丝踏车的速率受到负端缓慢的解聚速率的限制，因此切丝蛋白的结合导致肌动蛋白丝踏车速率大幅度增加。这样，细胞中的大部分肌动蛋白丝的寿命比试管中纯肌动蛋白形成的丝的寿命短很多。

切丝蛋白优先结合到含有 ADP 的肌动蛋白丝上，而不是含有 ATP 的丝。因为通常 ATP 的水解比纤维的组装慢，细胞中最新的肌动蛋白丝仍然主要含有 ATP，这就抵抗了切丝蛋白引起的解聚作用。因此，切丝蛋白有效地分解了细胞内较老的纤维，保证了所有的肌动蛋白

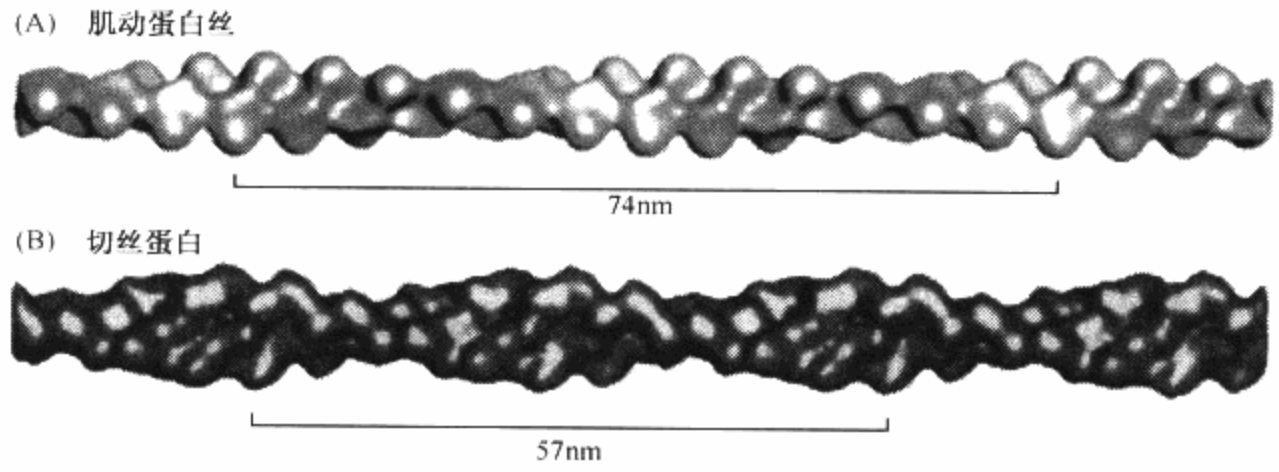


图 16-34 切丝蛋白诱导的肌动蛋白丝的扭曲

(A) 纯化的肌动蛋白形成的丝的三维重建冰蚀电镜照片。图中尺度表示肌动蛋白螺旋螺距的大小。(B) 肌动蛋白丝结合切丝蛋白后的三维重建照片。其中，切丝蛋白沿纤维以 1∶1 的化学计量与肌动蛋白亚单位结合。与肌动蛋白 (43kDa) 相比，切丝蛋白是一个小蛋白质 (14kDa)，因此，纤维看起来只发生了轻微地增厚。切丝蛋白结合产生的能量用来使肌动蛋白丝晶格变形，更紧密地扭曲，因此两个螺旋之间的螺距减小了

丝迅速地代谢回转。

与纤维末端相互作用的蛋白质能够显著改变纤维动力学

正如我们刚才所看到的，沿纤维侧面结合的蛋白质能够改变纤维的动力学行为。然而，这些蛋白质需要覆盖整个纤维才能达到最大限度的影响，而这意味着它们以相当高的化学计量存在于纤维上（例如，约 7 个肌动蛋白亚单位结合一个原肌凝蛋白，每 4 个微管蛋白亚单位结合一个 tau，或者每个肌动蛋白亚单位结合一个切丝蛋白）。相反地，优先结合到纤维末端的蛋白质在很低水平时就能对纤维动力学产生戏剧性的影响。由于亚单位的增加或去掉主要发生在纤维的末端，因此一分子这样的蛋白质足够使肌动蛋白丝网络的结构改变。

前面已经讨论过，一个停止延伸的肌动蛋白纤维丝在细胞内不是特别稳定，能迅速解聚：它既能从正端也能从负端失去亚单位，只要那端的肌动蛋白分子通过水解它们的 ATP 转变为 D 形。然而，最快的变化发生在正端。一个肌动蛋白丝能够通过在其正端连接一个 capping 蛋白而被稳定，这个蛋白质通过使纤维正端失活而减缓生长和解聚的速率（图 16-35）。事实上，细胞内多数肌动蛋白丝的正端通过一些蛋白质如 CapZ（它定位于肌肉细胞的 Z 带，所以称作 CapZ，见下面；它也被称为 capping 蛋白）被加帽。一个肌动蛋白丝的负端能够通过连接负责成核作用的 ARP 复合体而加帽。尽管在一个典型的细胞中，许多肌动蛋白丝负端被从 ARP 复合体没有加帽地释放出来是有可能的。

切丝蛋白细胞表面受体活化导致形成的质膜上的胞质小叶（讨论见第 15 章）的正端未加帽。这种不加帽使其正端对于延长是有效的，因而加速了肌动蛋白丝在细胞表面的聚合作用。

切丝蛋白在肌肉细胞中，肌动蛋白丝寿命很长，已经知道该纤维非常特殊，其两端都被加帽，正端被 CapZ 加帽而负端被原肌球调节蛋白（tropomodulin）加帽。原肌球调节蛋白只与被原肌凝蛋白覆盖并稳定的肌动蛋白丝的负端相结合。

微管的末端是由 13 条原纤维形成的环（图 16-6）。它是一个比肌动蛋白丝末端更大更复杂的结构，带有许多与辅助蛋白作用的可能性。我们曾讨论过的重要的微管的压盖机：γ-微管蛋白环复合体（γ-TuRc），它使微管在组织中心处生长成核并在它们的负端加帽。纤毛中的微管稳定且长度均匀。在该微管的末端发现了另一个微管加帽蛋白（后面讨论），它是一个

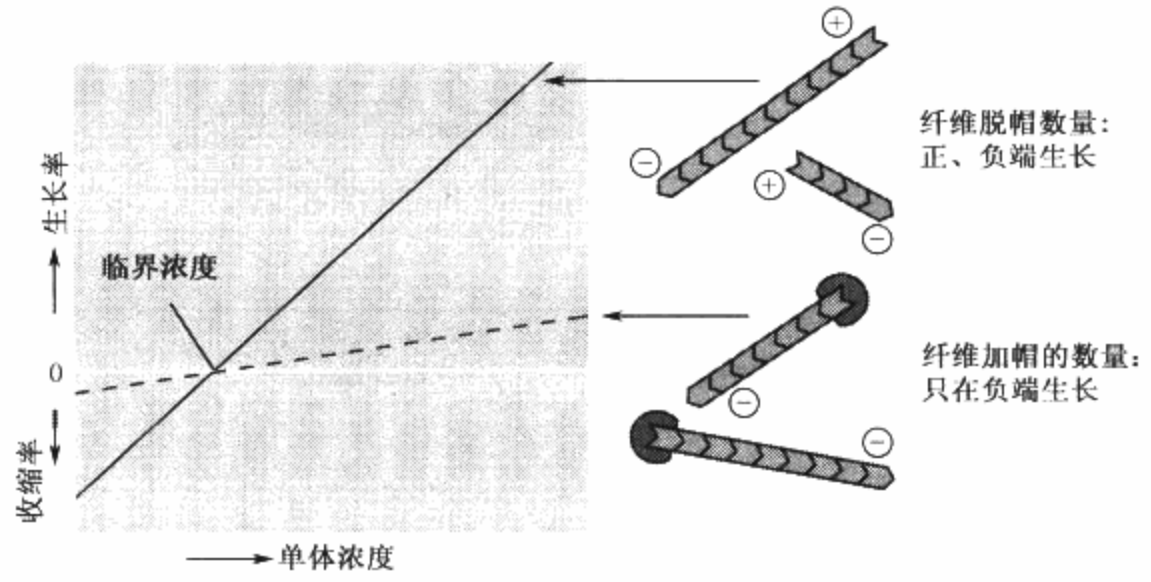


图 16-35　纤维加帽及对纤维动力学的影响

所有没有加帽的纤维在正端和负端都增加或失去亚单位，这导致了迅速的生长或缩短，而生长还是缩短依赖于可利用的游离亚单位的浓度（绿线）。当存在一种可以将正端加帽的蛋白质时（红线），只有负端能够加上或失去亚单位。这样，在单体浓度高于临界浓度的任何时候，纤维将缓慢生长，而在单体浓度低于临界浓度的任何时候，纤维将缓慢缩短。对于肌动蛋白丝来说，普遍采用的是这种类型的正端加帽，对于微管来说则不是

特殊的蛋白质复合体。

一些在微管末端活动的蛋白质起着比加帽蛋白更重要的作用。尤其是，它们能戏剧性地影响微管的动态不稳定性（图 16-11）。它们能够影响处于由生长向缩短状态转变的微管的速率或由缩短状态向生长状态转变的微管的速率。例如，一个驱动蛋白相关的蛋白质家族，称作 catastrophin，可以诱导转变。它们特异性地结合于微管末端并且看起来似乎撬开原纤维使之分开。它们降低了正常的用于阻止微管从圈中分离进入弯曲原纤维性质的解聚状态的激活能障［图 16-11（C）］。与它们作用相反的是 MAP，它们优先结合于微管中倾向持续生长的那端［图 16-36（A）］。但这两组蛋白质都是受调控的，它们之间活性平衡的巨大改变导致了我们在有丝分裂期间观察到的微管转变速率的显著增加（图 18-12）。

与微管末端结合的蛋白质也用于控制微管定位。除微管负端的 γ-TuRC 外，还有多组正端结合蛋白帮助将微管生长的一端定位在细胞皮质层中特异的蛋白质上。例如，酵母和人类细胞中都存在着一种末端结合蛋白，它是酵母有丝分裂纺锤体定位所必需的。这些蛋白质将酵母纺锤体微管的生长末端引导到位于酵母芽内特殊的对接区域上，然后帮助它们锚定在那里［图 16-36（B）］。

细胞中的纤维被构建成高度有序的结构

至今为止，我们已经描述了细胞如何使用辅助蛋白调控骨架纤维的定位和它们的动力学行为。这些蛋白质能使纤维组装成核，能结合到纤维的末端或侧面，或结合到纤维的游离亚单位上。井然有序的细胞骨架纤维形成了一个很有用的胞内支架，为细胞提供了机械完整性，决定了细胞的形状。因而不同纤维必须分别构建并连接在一起形成巨大的结构。例如，中心体就是骨架纤维的构建者之一，除了微管的成核生长，它还将它们维持在一个确定的几何形状内，使所有的负端埋在中心体内而它们的正端指向外部。通过这种方式，中心体建立了一个能够找到每个细胞中心（图 16-25）的微管星形排列方式。

切丝蛋白纤维组织形成巨大结构的另一个机制就是纤维交联。任何使一个纤维与另一个

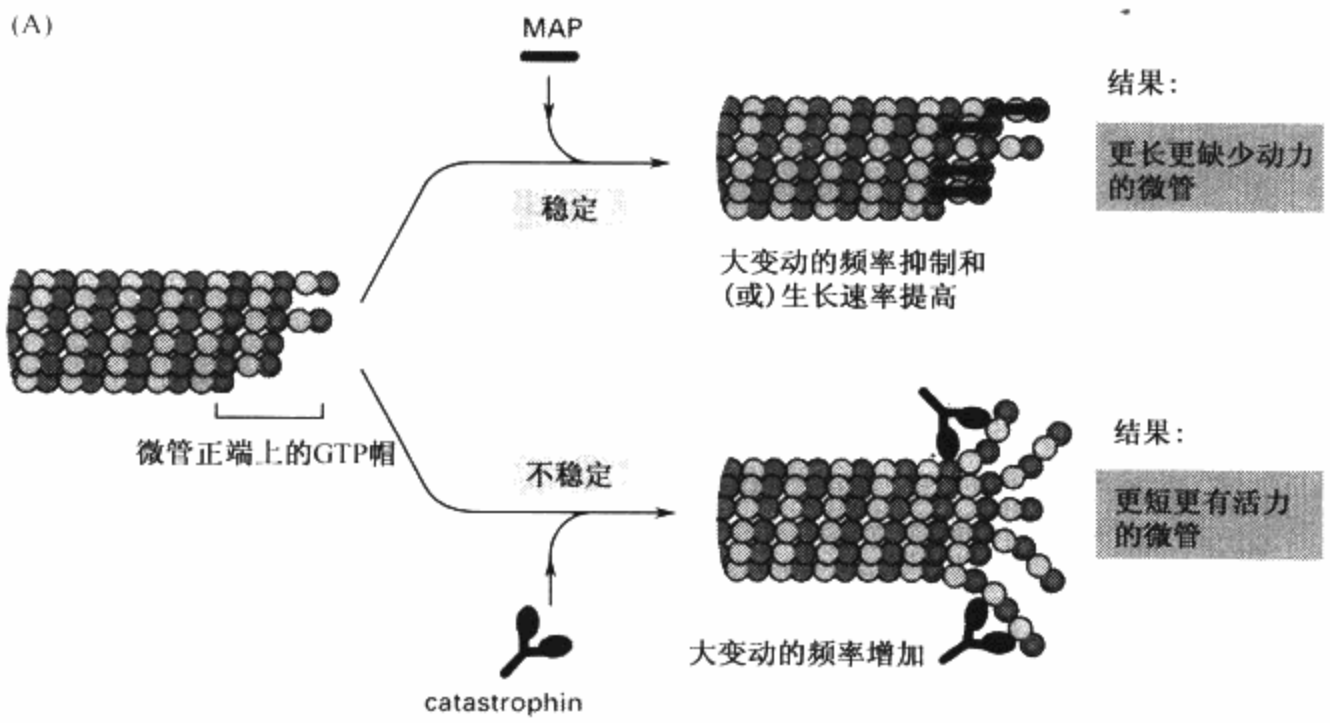


图 16-36　结合于微管末端的蛋白质的作用

（A）由特殊蛋白质控制的在微管生长和微管缩短间的转变。一种 MAP，例如，XMAP215 通过优先结合于微管生长的末端而使之稳定。驱动蛋白超家族成员起着与之相反的作用，这里特指 catastrophin（有多种其他不同的名称，如驱动蛋白家族 1 中的 KIF2；图 16-55）。（B）加帽蛋白帮助微管定位。这里，在出芽的酿酒酵母细胞中，EBI 微管加帽蛋白与已定位的 Kar9 蛋白相互作用。在有丝分裂期间，这种相互作用将纺锤体微管引导到生长的芽内。两种蛋白质中任意一个突变都导致微管蛋白不能正确定位。在人类细胞中，也发现微管正端存在 EB1 蛋白

纤维粘连的倾向都导致并联排列，以使纤维内的连接达到最大限度。如前面所述的那样，某些 MAP 能使微管成束。它们有两个结构域：一个沿着微管结合（因而能稳定微管），而另一个向外突出以连接其他 MAP 覆盖的微管。在肌动蛋白骨架中，稳定和交联的功能是分开的。原肌凝蛋白沿着肌动蛋白丝的侧面结合，但它没有朝外突出的结构域。纤维的交联则被只具有该功能的第二类肌动蛋白结合蛋白介导。然而，中间纤维也不同，它们通过纤维自身的横向自交联和辅助蛋白的交联活性而被构建。

中间纤维被交联并成束形成强有力的排列

每个单个的中间纤维以四聚体亚单位形成的长束的形式存在（图 16-16）。许多中间纤维通过自联作用进一步成束。例如，神经纤维蛋白 NF-M 和 NF-H 包含一个 C 端结构域，该结构从组装的中间纤维表面向外延伸并结合到相邻的纤维上。因此，一组神经纤维被众多的横向连接连在一起形成了坚实的平行排列，赋予神经元长细胞突以韧性和稳定性（图 16-20）。

其他类型的中间纤维是通过辅助蛋白连接在一起成束的。例如，中间丝相关蛋白（filaggrin），它使表皮分化细胞中的角蛋白丝成束，从而赋予皮肤最外层以特殊的韧性。网格蛋白（plectin），它能使波形蛋白成束，是一类有趣的特殊的交联蛋白。除了能使中间纤维成束，它还能将中间纤维连接到微管、肌动蛋白丝束和由动力蛋白肌球蛋白Ⅱ构成的纤维上，同时帮助中间纤维束连接到质膜上的粘连结构上（图 16-37）。突变编码网格蛋白（plectin）的基因导致与大疱性表皮松解（角蛋白丝被破坏所致）、肌营养不良（结合蛋白被破坏所致）和神经退行性变（神经纤维被破坏所致）结合的人类的破坏性疾病。缺乏有功能的网格蛋白基因的小鼠在出生后几日死亡，伴有发疱的皮肤和异常的骨骼、心肌。因此，尽管网格蛋白对于中间纤维的起始形成和组装可能不是必需的，但它的交联作用是提供细胞机械强度以抵抗脊椎动物与生俱来的机械应激所必需的。

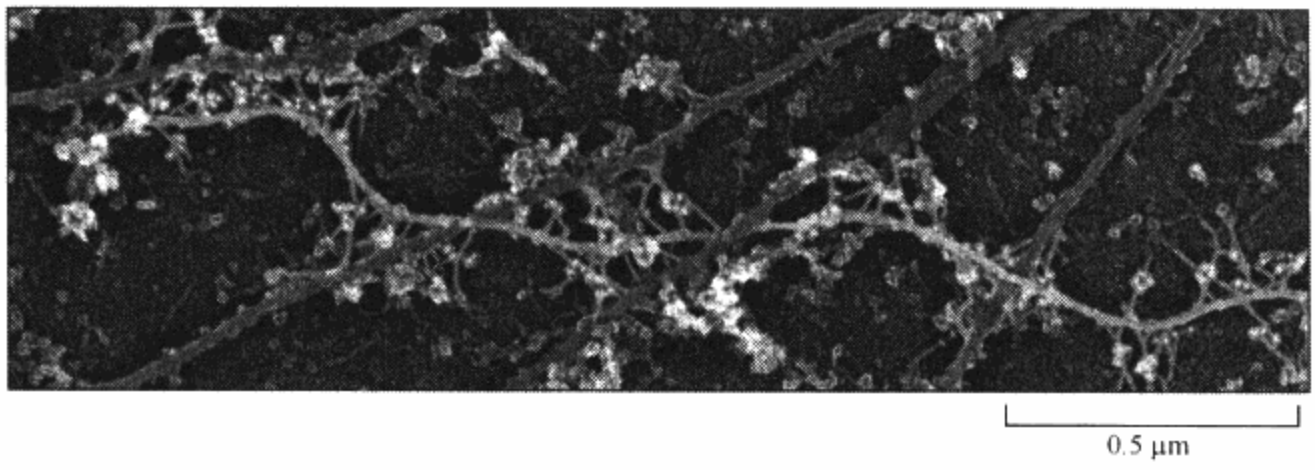


图 16-37　网格蛋白介导的不同细胞骨架纤维的交联

网格蛋白（绿色）使得中间纤维（蓝色）之间，中间纤维与微管（红色）之间，中间纤维与肌球蛋白粗肌丝之间交联。在这张电子显微镜照片中，黄点是连接在网格蛋白抗体上的金原子。为暴露这些蛋白质，整个肌动蛋白丝网络被移开了

性质不同的交联蛋白构建肌动蛋白丝不同的装配

在动物细胞中，肌动蛋白丝有两种组织排列方式：成束或像蜘蛛网一样的网络（图 16-38）。肌动蛋白丝交联蛋白也相应划分为两类，成束蛋白（bundling protein）和凝胶形成蛋白（gel-forming protein）。成束蛋白使肌动蛋白丝交联呈平行排列，而胶样成形蛋白将两个肌动蛋白丝以很大角度连在一起，因而形成了一个松散的网状组织。通常，这两种类型交联蛋白都有两个相似的肌动蛋白结合位点，它们每一个都能被分离成一个单独的多肽链，或两个多肽链能够结合在一起形成二聚体。这两个丝结合结构域的间距和排列决定着给定的交联蛋白形成的肌动蛋白的结构类型（图 16-39）。

肌动蛋白（fimbrin）和 α-辅肌动蛋白（α-actinin）是广泛分布的肌动蛋白成束蛋白（actin-bundling protein）。肌动蛋白是一个小的交联剂，它的两个肌动蛋白结合结构域密集在一个多肽链中。在细胞前缘的丝状伪足中，它集中于平行的肌动蛋白丝束中，而且它可能负责这些肌动蛋白丝的紧密连接（图 16-40）。α-辅肌动蛋白含有的两个肌动蛋白结合结构域可以进一步分离［图 16-40（A）和（B）］，它集中于应力纤维，在那里负责这些收缩性肌动蛋白丝束间的相对较松散的交联。它还帮助将应力纤维的末端固定于质膜上的黏着斑（focal contact）部位（见下面）。

切丝蛋白每种类型的成束蛋白决定了其他哪些分子能够与肌动蛋白丝相互作用。肌球蛋

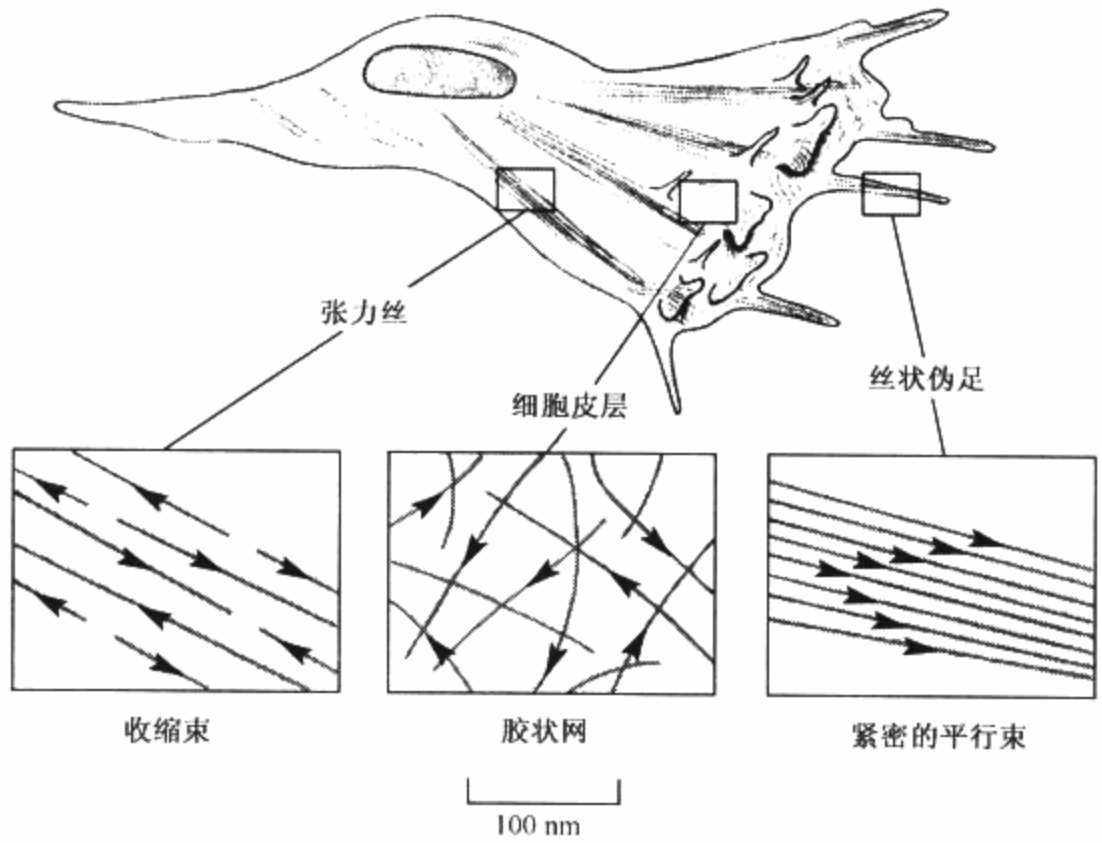


图 16-38　细胞中肌动蛋白的排列

一个爬行的细胞（拉出来的方块表示），三个不同的部位经放大后显示出肌动蛋白丝的排列。肌动蛋白丝以红色表示，带箭头的一端指向其正端。张力丝是可收缩的并能产生张力。丝状伪足是质膜的钉突样改变，它允许一个细胞探测它周围的环境。皮质位于质膜的下方

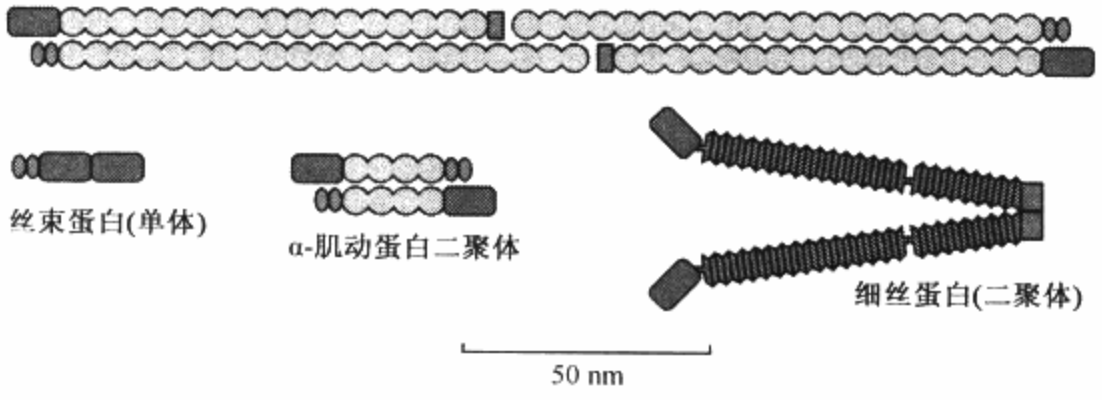


图 16-39　4 个肌动蛋白交联蛋白的模块结构

图中所示的每个蛋白质都有序列上相关的两个肌动蛋白结合位点（红色表示）。肌动蛋白有两个直接相连的肌动蛋白结合位点，因此它固定的两个肌动蛋白丝间相距很近（相距 14nm），并以同样的极性对齐［图 16-40（A）］。α-辅肌动蛋白的两个肌动蛋白结合位点相距约 30nm，因此它形成较松散包装的肌动蛋白束（图 16-40）。细丝蛋白的两个肌动蛋白结合位点以 V 形铰链连接，因此它们交联肌动蛋白丝形成网络，同时丝与丝成约 90°角（图 16-42）。spectrin 是由两个 α 和两个 β 形成的四聚体，该四聚体上的两个肌动蛋白结合位点相距 200nm（图 10-31）

白Ⅱ（肌球蛋白 Ⅱ）是存在于应力纤维和其他收缩性排列中的一种蛋白质，它负责它们收缩的能力。一方面，由肌动蛋白导致肌动蛋白丝密集包装，明显排斥肌球蛋白，因而丝状伪足不能收缩；另一方面，由 α-辅肌动蛋白导致的松散的包装允许肌球蛋白进入，使应力纤维收缩［图 16-40（A）］。因为肌动蛋白丝间的间距不同，肌动蛋白自主地成束阻碍了 α-辅肌动蛋白的成束作用，因此，这两种类型的成束蛋白之间相互排斥。

切丝蛋白绒毛蛋白（villin）是另一种成束蛋白，类似于肌动蛋白，有两个肌动蛋白丝结

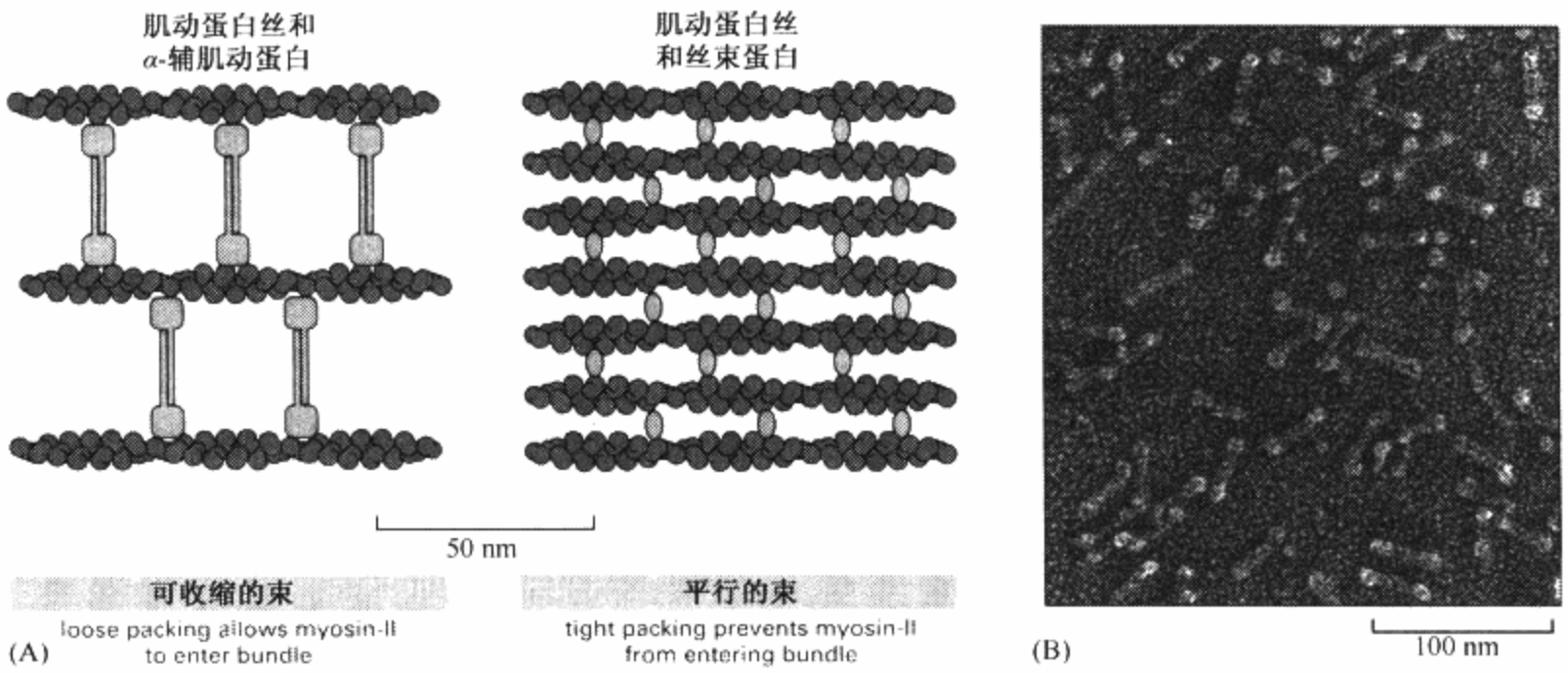


图 16-40　两种类型的肌动蛋白丝束的形成

（A）α-辅肌动蛋白，一种同源二聚体，交联肌动蛋白丝形成松散的束。这种松散的束允许动力蛋白肌球蛋白 II（没有显示）加入到装配中。肌动蛋白交联肌动蛋白丝形成紧实的束，它将肌球蛋白排斥在外。肌动蛋白和 α-辅肌动蛋白趋向于互相排斥，因为它们形成间距极不相同的肌动蛋白束。（B）纯化的 α-辅肌动蛋白分子的电镜照片

合位点，两个位点密集在一个多肽链中。在微绒毛和许多上皮细胞表面质膜的指状延长中，绒毛蛋白（与肌动蛋白一起）帮助 20 个紧实成束的肌动蛋白丝连接到 30 个这样的肌动蛋白丝上（图 16-41）。例如，在人类小肠中，单个具有吸收功能的上皮细胞刷状缘内就有几千根微绒毛。每根约 0.08μm 宽，1μm 长，使细胞表面吸收面积比没有微绒毛时扩大了 20 倍。当将绒毛蛋白引入到正常情况下不含绒毛蛋白但有少量小的微绒毛的成纤维细胞中，已有的微绒毛变得更长更稳定了，并且诱导产生了新的微绒毛。微绒毛的肌动蛋白丝核心通过由肌球蛋白 Ⅰ组成的横向侧球沿质膜面连接到质膜上。肌球蛋白Ⅰ一端有一个丝状肌动蛋白结合位点，另一端与磷脂结合。这两种类型的交联剂，一个介导肌动蛋白丝间的连接，另一个将这些丝连接到质膜上，似乎足够形成细胞微绒毛了。

至今为止，我们所讨论过的不同的成束蛋白，它们的两个肌动蛋白丝结合结构域之间都是直的、僵硬的连接，并且它们倾向于使丝以并联方式排列成束。相反，那些肌动交联蛋白，它们的两个结合结构域间可能是柔软易曲的或是僵硬的弯曲连接，这样就形成了肌动蛋白丝网络或凝胶，而不是肌动蛋白束。

一个很好的网络形成蛋白质的例子就是血影蛋白（spectrin），它是血红细胞中第一个被鉴定的蛋白质。血影蛋白是一个长的易弯曲的蛋白质，由 4 条狭长的多肽链（两条 α 链和两条 β 链）组成，因而两个肌动蛋白丝结合位点相距约 200nm（与 14nm 的肌动蛋白和约 30nm 的 α-辅肌动蛋白相比；图 16-39）。在血红细胞中，血影蛋白集中于质膜下方，在那里有短的肌动蛋白丝连接形成的二维网络。血影蛋白将这个网络连接到质膜上，因为它有单独与外周膜蛋白结合的位点，而外周膜蛋白本身又通过膜内在蛋白置于脂双层附近（图 10-31）。这个网络形成了一个僵硬的细胞皮质，它为覆盖于上方的质膜提供了机械支撑力，允许血红细胞通过毛细血管被挤压后恢复其原来的形状。在脊椎动物多数类型细胞的皮质中都发现有血影蛋白亲缘关系较近的蛋白质，它们在那里也是起帮助定型和加固表面膜作用的。

任何交联蛋白，它的两个肌动蛋白丝结合结构域被一个长的弯曲的链合连接，能够形成三维的肌动蛋白凝胶。细丝蛋白（图 16-39）以约 90°的角度夹住两个肌动蛋白丝

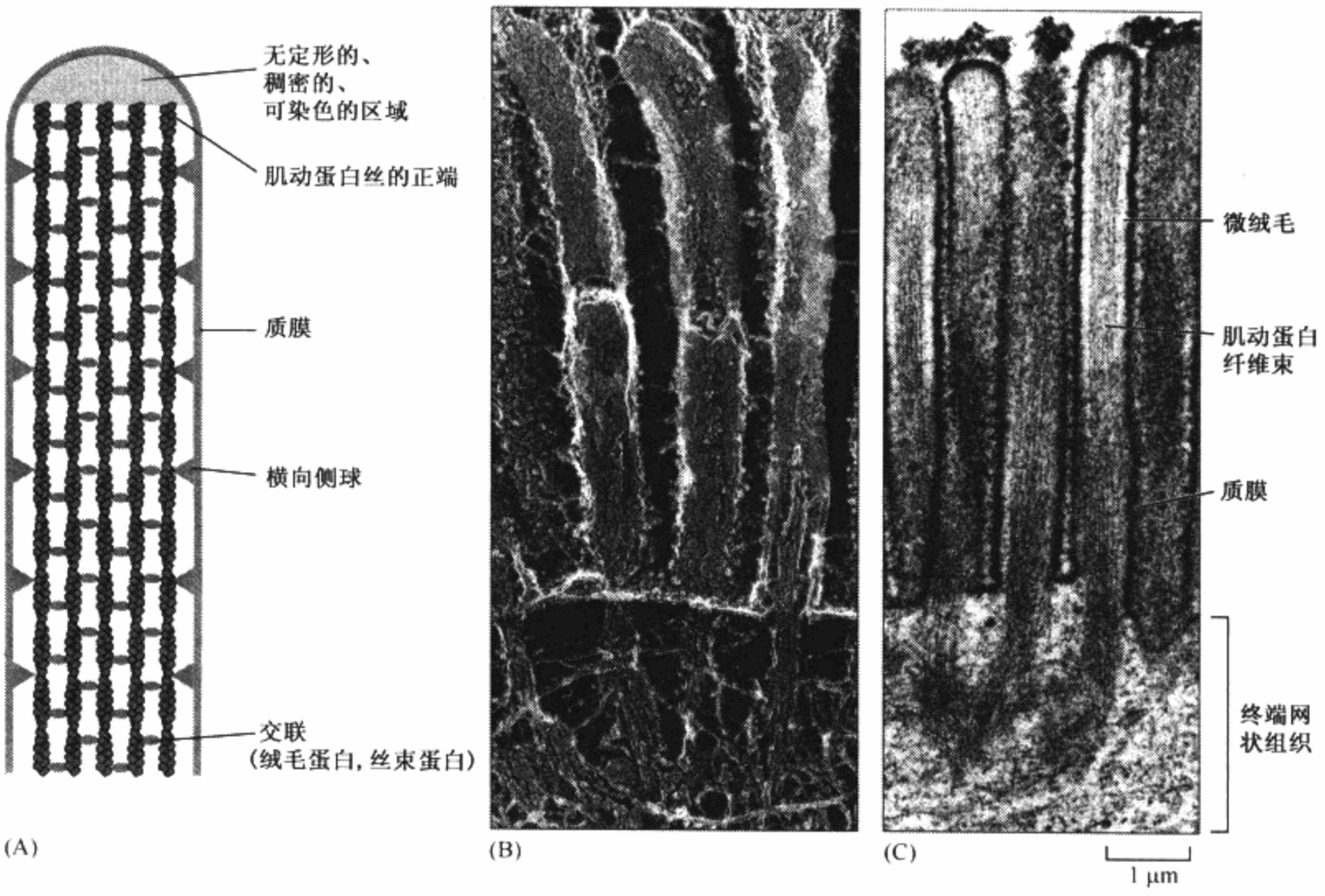


图 16-41　微绒毛

（A）肌动蛋白结合蛋白交联形成的一束平行的肌动蛋白丝是一个微绒毛的核心。横向侧球（由肌球蛋白 I 和钙调蛋白组成）从肌动蛋白丝束的侧面将其连接到质膜上。所有肌动蛋白丝的正端都在微绒毛的顶端，并埋在那里一种成分未知的无定形的稠密的染色的物质中。（B）小肠上皮细胞的刷状缘表面的冷冻断裂电镜照片，显示了微绒毛。微绒毛向下延伸进入细胞的肌动蛋白束植根于终端网状组织，在那里被一组包括血影蛋白和肌球蛋白 II 在内的蛋白质复合物连接在一起。在终端网状组织下是一层中间纤维。（C）微绒毛薄切片的电镜照片

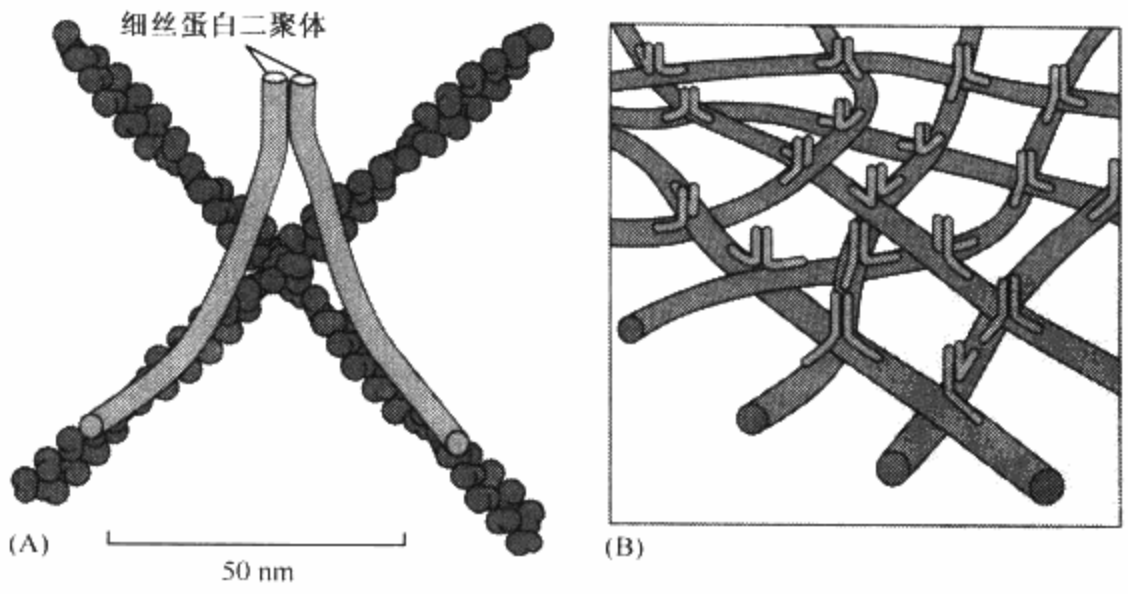


图 16-42　细丝蛋白交联肌动蛋白丝形成凝胶样物理性质的三维网络

（A）每个细丝蛋白同源二聚体完全伸展时约 160nm 长，并且在两个相连的肌动蛋白丝间形成易曲的、大角度的连接。（B）被细丝蛋白交联的一组肌动蛋白丝形成一个机械性强的网状或凝胶

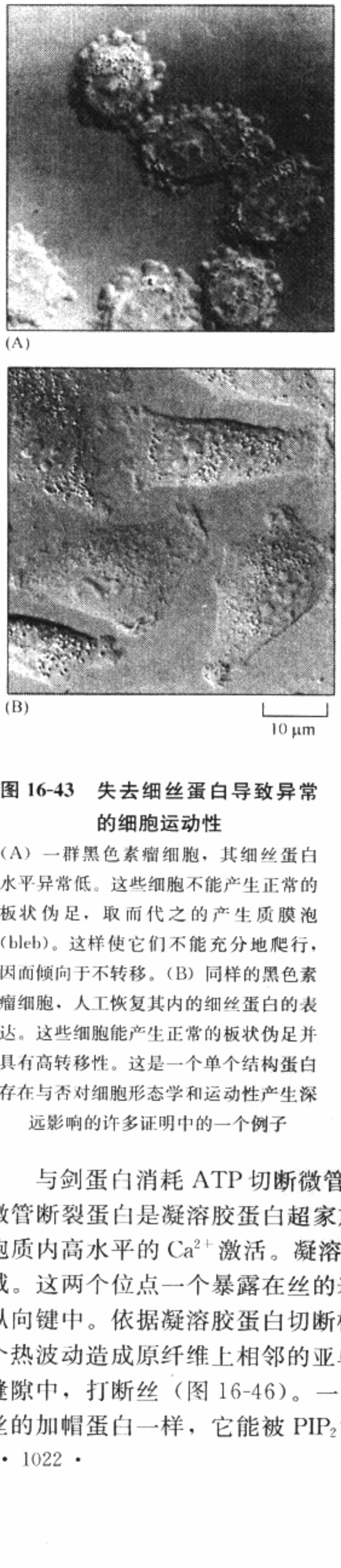


图 16-43　失去细丝蛋白导致异常的细胞运动性

(A) 一群黑色素瘤细胞，其细丝蛋白水平异常低。这些细胞不能产生正常的板状伪足，取而代之的产生质膜泡(bleb)。这样使它们不能充分地爬行，因而倾向于不转移。(B) 同样的黑色素瘤细胞，人工恢复其内的细丝蛋白的表达。这些细胞能产生正常的板状伪足并具有高转移性。这是一个单个结构蛋白存在与否对细胞形态学和运动性产生深远影响的许多证明中的一个例子

(图 16-42)，促进形成了松散而高黏度的凝胶。由细丝蛋白形成的肌动蛋白凝胶是细胞延伸出片层状的质膜突起所必需的，这种突起称作板状伪足（lamellipodia），它用来帮助细胞爬行穿过光滑的表面。一些类型的癌细胞缺乏细丝蛋白，尤其是一些恶性黑色素瘤（色素细胞癌）。这些细胞不能正常的爬行，取而代之的是它们伸出紊乱的膜泡（图 16-43）。损失了细丝蛋白对于黑色素瘤细胞是坏消息，但对于黑色素瘤患者却是好消息。因为这些不能表达细丝蛋白的黑色素瘤细胞不能爬行，它们的侵染性比那些相同但仍表达细丝蛋白的黑色素瘤细胞小，这样癌转移的可能性就很小了。

割断蛋白调控肌动蛋白丝与微管的长度和动力学行为

某些情况下，一个细胞可能将一个已经存在的长的丝打断成许多短的丝。这样产生大量新的纤维末端：一个长丝仅有一个正端和一个负端，被打断形成许多短丝后，每个短丝都有自己的正端和负端。在某些细胞内环境下，这些新形成的末端成核延长纤维，并且这种割断加速新丝结构的装配。在其他环境下，割断则促进旧丝的解聚作用，10 倍或更多倍地增加解聚的速率（图 16-44）。而且，丝的割断能改变细胞质的物理和机械属性：当丝被切断后，坚硬巨大的束或凝胶变得非常易流动。

要打断一个微管，必须打断 13 个纵向键，一个键对应一条原纤维。剑蛋白（katanin）是根据日本“剑”这个词来命名的，完成破坏的任务（图 16-45）。剑蛋白由两个亚单位组成，一个小的亚单位能水解 ATP，真正执行切断作用；另一个大的亚单位将剑蛋白集中到中心体上。剑蛋白从它的附着物微管组织中心上释放出微管，并且在有丝分裂期间所观察到的两极有丝分裂纺锤体处微管迅速解聚作用中，它被认为起决定性作用。在分裂间期的再育细胞和有丝分裂后细胞（如神经元）中也发现了剑蛋白，在这些细胞中它也可能参与微管的释放和解聚。

与剑蛋白消耗 ATP 切断微管不同，肌动蛋白丝的断裂并不需要额外的能量输入。多数微管断裂蛋白是凝溶胶蛋白超家族（gelsolin superfamily）的成员，它们的割断活性能被细胞质内高水平的 Ca^{2+} 激活。凝溶胶蛋白具有能结合于肌动蛋白亚单位上两个不同位点的子域。这两个位点一个暴露在丝的表面，另一个通常隐藏在同原纤维里另一个亚单位结合的纵向键中。依据凝溶胶蛋白切断模型，凝溶胶蛋白结合在肌动蛋白丝的一侧，等待碰巧一个热波动造成原纤维上相邻的亚单位间产生一个小缝隙，然后凝溶胶蛋白指令其子域进入缝隙中，打断丝（图 16-46）。一旦凝溶胶蛋白切断一个肌动蛋白丝后，就像一些肌动蛋白丝的加帽蛋白一样，它能被 PIP_2 浓度的局部提升从丝的末端移去。

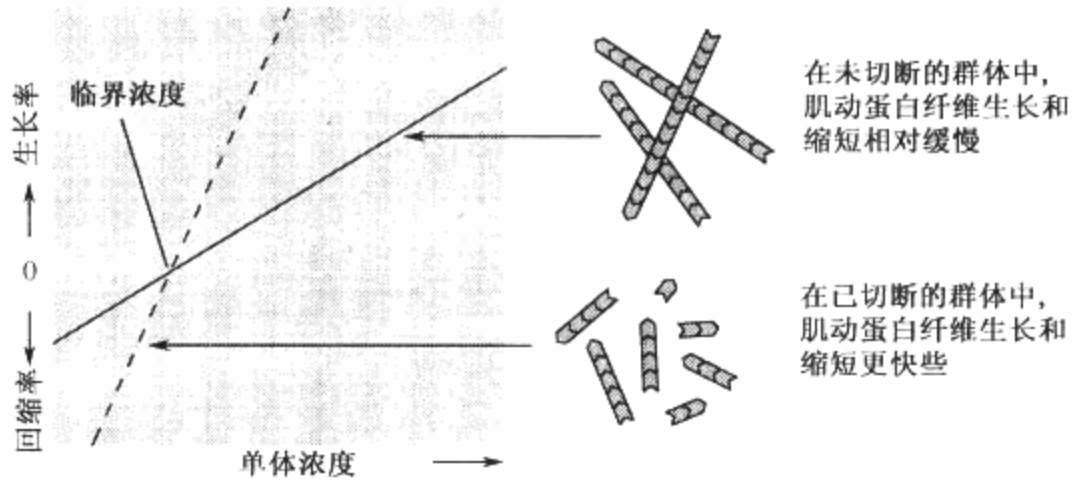


图 16-44　丝的割断及它对纤维动力学的影响

通常，纤维只能在它们的末端获得或失去亚单位，限制了肌动蛋白以丝状形式存在时总数增长和减少的最大速率（绿色直线）。如果丝被割断成小的片段，末端总数增加，因而在单体浓度高于临界浓度时，群体中的纤维块迅速增加，而当单体浓度低于临界浓度时，群体中的纤维块迅速减少（红线）。因而，割断提高了丝的动力学速率

血小板激活的过程显示了一个细胞如何调控其肌动蛋白辅助蛋白介导割断、加帽及交联，从而产生迅速而戏剧性的形态学改变。血小板是没有核的细胞，它们在血液中循环并帮助在损伤处形成凝块。静止的血小板是盘形的，并且它包含短的被 CapZ 加帽的肌动蛋白丝，这些肌动蛋白丝被一个大的与 G 肌动蛋白结合蛋白结合的肌动蛋白单体库所包围。当血小板与破坏的血管边缘接触或接受一个化学凝固信号如凝血酶时被激活，细胞内一个迅速的信号转导级联导致 Ca^{2+} 大量流入血小板胞质中。流入的 Ca^{2+} 激活凝溶胶蛋白，它能将加帽的丝打断成小的碎片，每个都被凝溶胶蛋白加帽。当动力学较缓慢时，同样的信号通路导致 PIP_2 水平升高，这将使凝溶胶蛋白和 CapZ 都失活，从它们结合的丝的正端上移去。然后这些割断和脱帽产生的大量的游离正端被单体肌动蛋白库迅速延长形成许多长纤维。这些长纤维中的一些被细丝蛋白交联形成凝胶，其他的则被 α-辅肌动蛋白和肌动蛋白成束。这导致被激活的血小板延伸出板状伪足和丝状伪足并伸展细胞本身横跨凝块（图 16-47），通过称为整联蛋白的跨膜的黏着蛋白附加在凝块上。一旦 PIP_2 信号消退，CapZ 又返回到丝的末端，表现出稳定的抗解聚作用并将血小板锁定在伸展状态。最终，肌球蛋白Ⅱ通过 ATP 水解作用沿长的肌动蛋白丝做相对滑行，导致血小板收缩，从而将伤口边缘牵拉在一起。

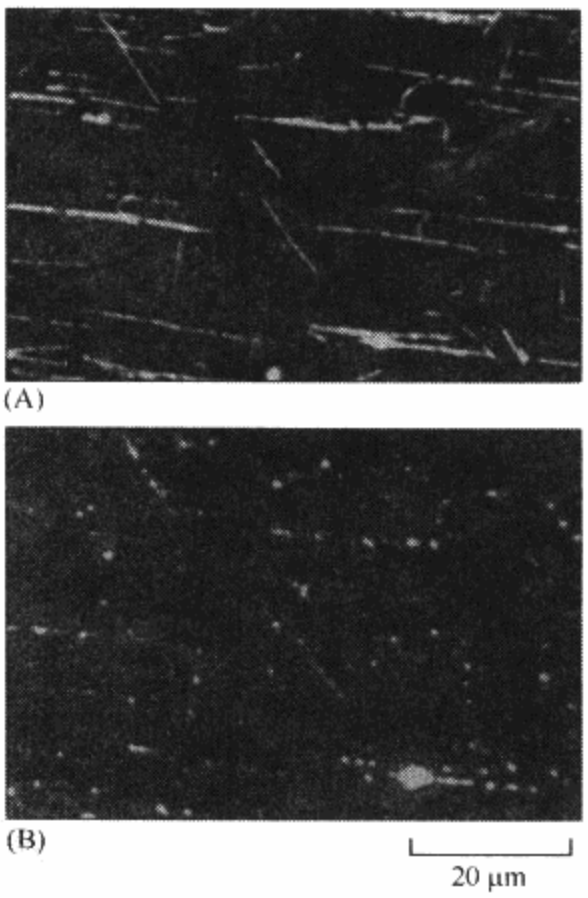


图 16-45　微管被剑蛋白割断

用紫杉酚固定，罗丹明标记的微管被吸附在光滑的玻璃表面，同时将 ATP 和纯化的剑蛋白一同加入。（A）加入剑蛋白后 30s 内微管有少量的断裂。（B）同样的区域，在加入剑蛋白 3min 后，之前的长的微管被在多处割断，形成一系列小片段

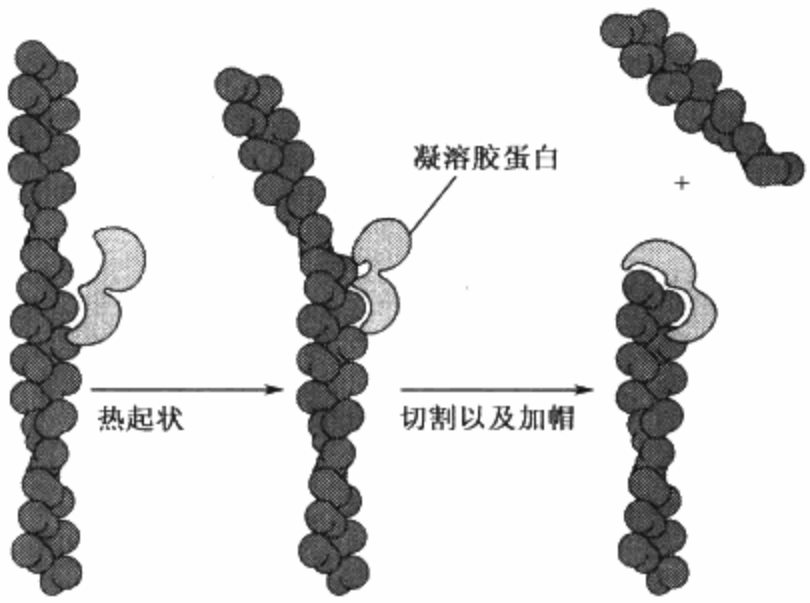


图 16-46　肌动蛋白丝被凝溶胶蛋白割断的模型

在凝溶胶蛋白上有两个肌动蛋白结合位点。这些位点允许凝溶胶蛋白同时结合到肌动蛋白丝的侧面和末端。丝被凝溶胶蛋白割断后其正端仍然被加帽。villin，一个肌动蛋白结合蛋白［图 16-41（A）］，与凝溶胶蛋白是同一个蛋白质家族的成员，除非在很高的 Ca^{2+} 浓度时，它获得另一个肌动蛋白结合位点的同时失去了割断丝的能力

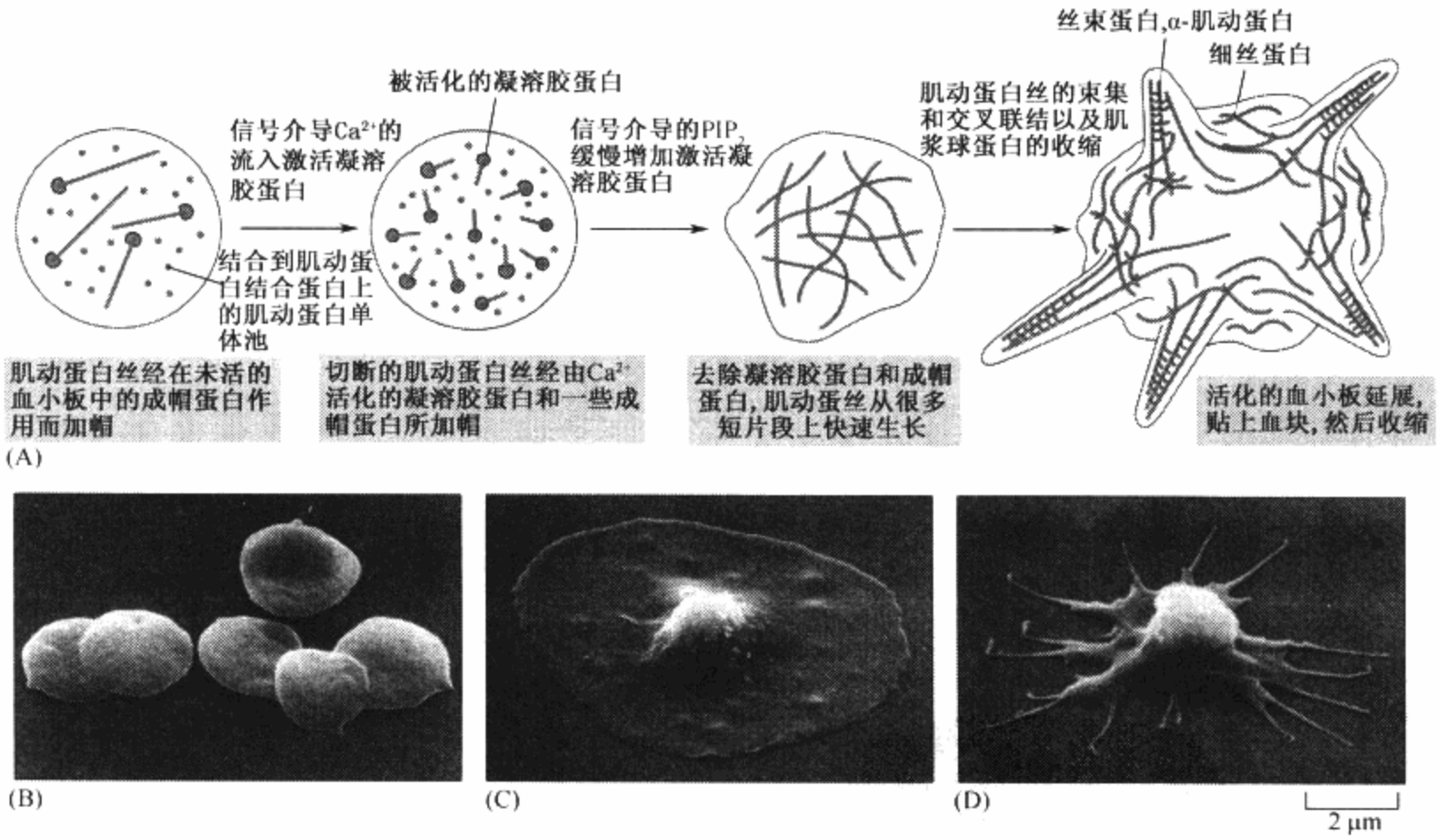


图 16-47　血小板激活

（A）血小板激活是血小板内肌动蛋白丝割断、脱帽、延伸、重新加帽、交联等造成形状戏剧性改变的一个受控程序。（B）血小板激活前的扫描电镜照片。（C）一个被激活的血小板及它的巨大的延展的板状伪足。（D）处于比（C）图更晚一个阶段，由肌球蛋白Ⅱ介导收缩后的被激活的血小板

细胞骨架元件能附着到质膜上

肌动蛋白骨架结构的一个基本功能是使质膜坚硬或改变它的形状。我们已经遇到了至少两个例子：位于血红细胞质膜下方的血影蛋白-肌动蛋白网络和增大了上皮细胞吸收面积的微绒毛中的绒毛蛋白-肌动蛋白束。这些结构的作用依赖于肌动蛋白丝的成束和交联以及肌动蛋

白丝结构与蛋白或质膜的脂类的特异性连接。在许多例子中，细胞骨架的装配有一个附加的功能就是帮助将细胞内的结构与其周围的环境相连通，包括其他的细胞以及细胞外基质。肌动蛋白丝和中间纤维对这种连接都至关重要的。这里，我们描述了几种类型的细胞骨架与介导细胞粘连的跨膜蛋白间的特异的相互作用。我们仅考虑细胞内这样的相互作用，细胞外的相互作用将在第 19 章讨论。

一个广泛分布的亲缘关系较近的细胞内蛋白质家族，ERM 家族（根据最初的三个成员 ezrin、radixin、moesin 命名），在许多类型的细胞中起着将肌动蛋白丝连接到质膜上的作用。ERM 蛋白的 C 端结构域直接结合到肌动蛋白丝的侧面。N 端则结合到细胞质一侧的跨膜糖蛋白上，包括细胞外基质透明质烷的受体 CD44。导致 ERM 家族成员 melin 损失的突变的结果表明了 ERM 蛋白功能的重要性。这种突变导致产生了一种类型的人类遗传疾病，称为多发性神经纤维瘤（neurofibromatosis），患者在听神经以及神经系统的其他部位发育生成多个良性肿瘤。

与血影蛋白或肌球蛋白Ⅰ介导的肌动蛋白与质膜的连接不同，这种由 ERM 蛋白介导的连接同时受到细胞内和细胞外信号的调控。ERM 蛋白能以两种构象存在，一种是有活性的延展的构象，这种构象将寡聚体化并结合肌动蛋白和 CD44；另一种是无活性的折叠的构象，这种构象下的 N 端和 C 端在分子内的相互作用下被固定在了一起。两种构象间的转换可以通过磷酸化或与 PIP_2 结合而引发。在应答胞外信号时，磷酸化或与 PIP_2 结合都能够发生。因此，ERM 介导的肌动蛋白骨架和胞外基质间的连接的强度对细胞所接受的各种各样的信号敏感（图 16-48）。

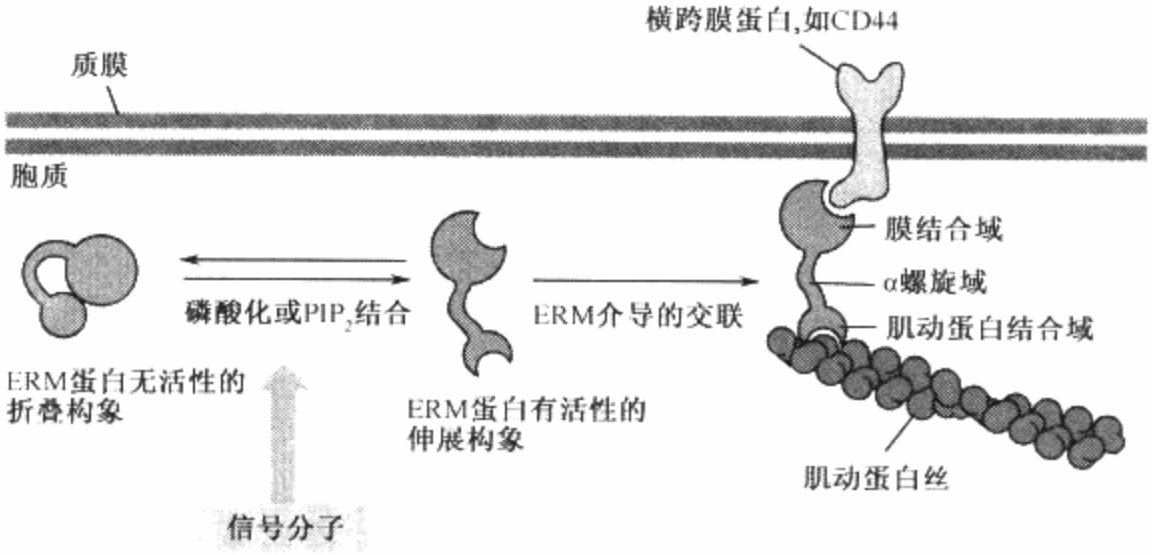


图 16-48　ERM 家族蛋白将肌动蛋白丝连接到质膜上的作用

受调控的未折叠的 ERM 家族蛋白，被磷酸化或与 PIP_2 结合后，暴露出两个结合位点，一个用来与肌动蛋白丝结合，另一个用于与跨膜蛋白结合。从而 ERM 家族蛋白的激活能够产生并稳定细胞表面突起以形成对胞外信号的应答

细胞骨架纤维特殊的束形成了横跨质膜的坚固的附着结构：黏着斑、黏着带和桥粒

黏着斑（focal contact）是肌动蛋白丝和细胞外基质间一种高度特异的附着结构，它允许细胞在培养基上牵拉跳跃。黏着斑在培养的成纤维细胞中尤其容易被看到，因为正常情况下成纤维细胞底部和培养基间的空隙为 50nm，黏着斑在这里产生斑使空隙距离减少到 10～15nm（图 16-49）。在这些位点，应力纤维，包括肌动蛋白丝和肌球蛋白Ⅱ蛋白丝形成的可收

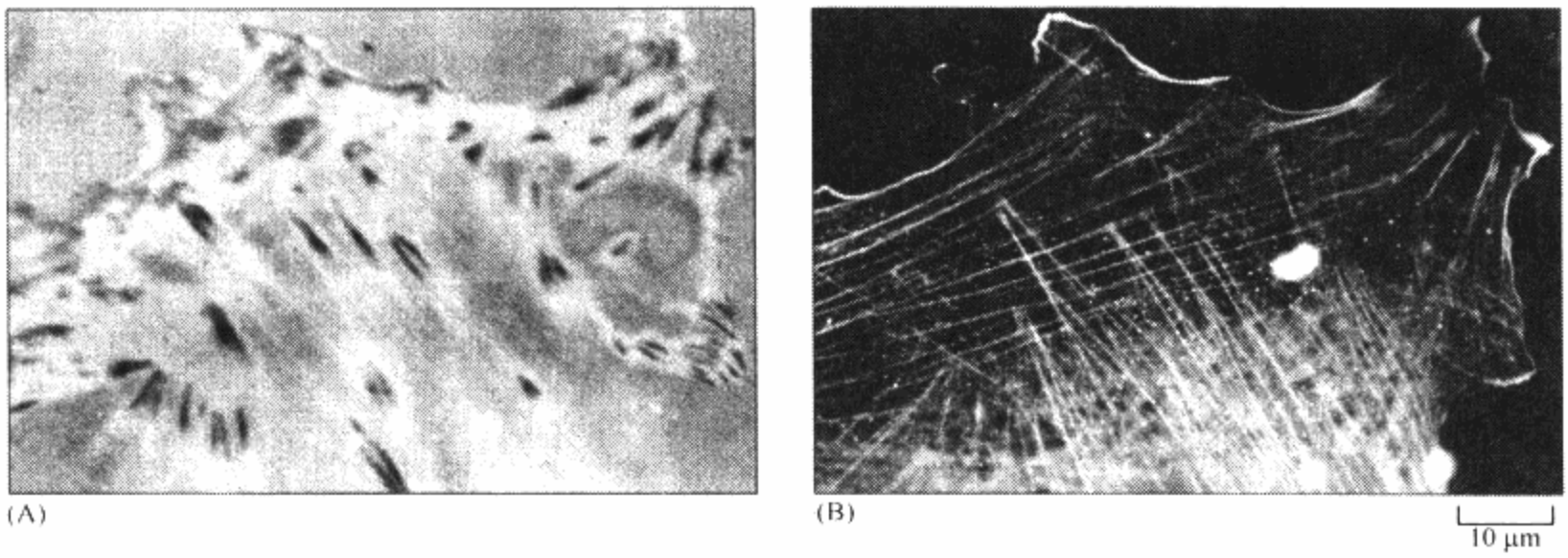


图 16-49　培养的成纤维细胞中的黏着斑和应力纤维

（A）利用映像干涉显微镜能很好地观测到活细胞中的黏着斑。这种技术中，光从附着在光滑玻璃上的细胞的较低的表面被反射，因而黏着斑显现呈黑色碎片。（B）同样的细胞固定后用肌动蛋白抗体进行免疫荧光染色，显示出细胞的多数肌动蛋白丝束（或应力纤维）终止在黏着斑或终止在黏着斑的附近

缩的束，终止于质膜上有成簇的称作 integrin 跨膜粘连蛋白的地方。integrin 是一个巨大的异源二聚体蛋白家族，它们结合各种不同的细胞外基质中的组分（讨论见第 19 章），并且它们与肌动蛋白丝束的连接是间接的，由多个细胞内锚定蛋白形成的精细的复合物所介导。

除了作为细胞的锚外，黏着斑还能够将信号从胞外基质传递到细胞内。因此，在黏着斑处成簇的 integrin 能激活一种酪氨酸激酶——黏着斑激酶（focal adhesion kinase，FAK）（讨论见第 19 章）。它的活性敏感于细胞所在的培养基的类型，并且受到细胞附着位点处总的压力的调控。这是如何发生的还不清楚，但 FAK 是 Src 胞质酪氨酸激酶的靶目标，而 Src 胞质酪氨酸激酶也被富集在黏着斑处。一旦被激活，FAK 将大量靶目标磷酸化，包括黏着斑复合物中的许多组分，并且帮助调控生存、生长、增殖、形态、运动和细胞分化以适应胞外环境。尽管我们还不知道细节，但细胞生长和发育受到来自粘连蛋白的信号的影响和来自广泛研究的胞外可溶信号分子受体（讨论见第 15 章）的信号的影响可能一样大。

除了形成机械的坚固的附着于胞外基质的结构外，锚定于质膜上的细胞骨架元件也提供了与其他细胞的附着。例如，由跨膜钙黏蛋白（cadherin protein）间的相互作用介导的上皮细胞间广泛的连接（图 19-24）。钙黏蛋白的胞质尾区与链蛋白（catenin）的蛋白质复合物结合，而该复合物又与肌动蛋白丝相结合（图 19-29）。这些肌动蛋白强化的、钙黏蛋白介导的成簇的细胞与细胞间的连接形成了第 19 章中描述的附着结点（adherens junction）。

从黏着斑和附着结点我们可以看出一个一般的原则，就是细胞骨架纤维束通过精细的多蛋白质的复合物间接地连接到跨膜粘连蛋白上，这个要点将在讲述中间纤维附着到质膜上时被重新归纳。中间纤维在称为桥粒（desomsome）（细胞与细胞间的连接）和半桥粒（hemidesmosome）（细胞与胞外基质间的连接）的结构处被锚定在质膜上。这些细胞连接在维持上皮组织的坚韧性中尤为重要（讨论见第 19 章）。

胞外信号能够诱导主要的细胞骨架纤维重排

在前面的部分中，我们已经知道辅助蛋白如何通过与细胞骨架纤维系统连接调控丝的长度、定位、构建和动力学行为的。胞外信号能够改变这些辅助蛋白的活性，因而能够改变细

胞骨架和细胞行为。

对于肌动蛋白骨架，各种不同的细胞表面受体将引发球状结构应答外部信号发生重排。但所有的这些信号似乎都集中于细胞内一组相关的单体 GTP 酶上，这些酶是 **Rho 蛋白家族**（Rho protein family）的成员，包括 Cdc 42、Rac 和 Rho。与其他 Ras 超家族成员类似，这些 Rho 蛋白作为分子开关，通过在活性、GTP 结合的状态和无活性、GDP 结合两者间的循环，控制着细胞的进程（图 3-70）。Cdc42 的激活引发肌动蛋白的聚合和成束以形成丝状伪足或更短的称为微刺的细胞突起。Rac 的激活促进了肌动蛋白在细胞周围的聚合，导致片层状的板状伪足和膜皱褶的形成。Rho 的激活促进了肌动蛋白丝同肌球蛋白Ⅱ蛋白丝（myosinⅡ filament）成束形成应力纤维，同时也促进 integrin 成簇并与蛋白质结合形成黏着斑(图 16-50)。这样复杂的结构改变之所以能够发生是因为这三种分子中的每个都对大量的下游影响肌动蛋白构建和动力学的靶蛋白起开关作用（每种中至少已经发现了 8 个）。其他的靶蛋白影响基因的转录。

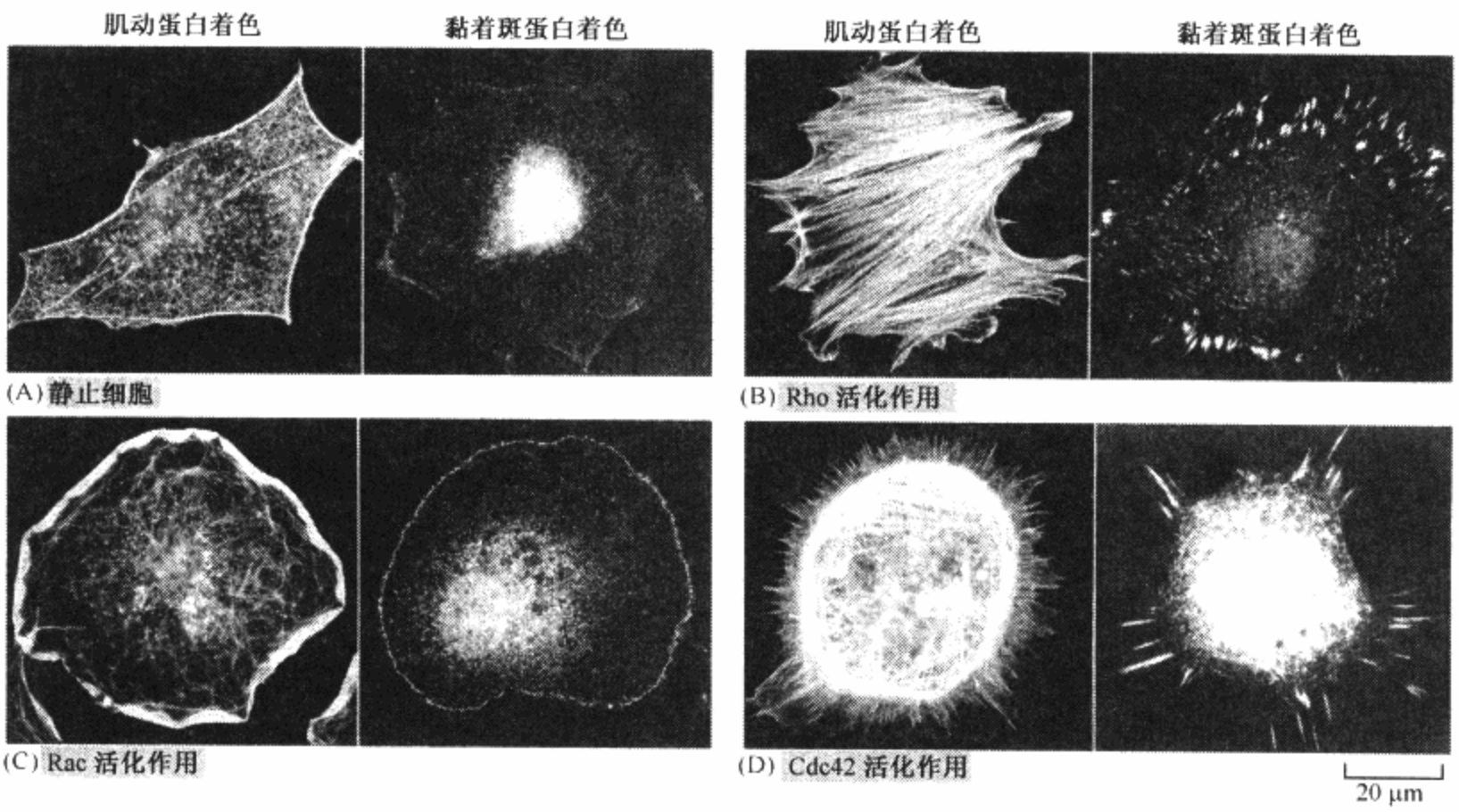


图 16-50　Rac、Rho 和 Cdc42 对成纤维细胞中肌动蛋白构建的戏剧性影响

图中，肌动蛋白丝均被荧光的毒伞素标记，黏着斑被抗黏着斑蛋白的抗体标记。(A) 血清饥饿培养的成纤维细胞中，肌动蛋白丝主要集中在皮质中，黏着斑相对较少。(B) 显微注射组成性激活形式的 Rho，导致多个突起的应力纤维和黏着斑的迅速装配。(C) 显微注射组成性激活形式的 Rac，一种关系较近的单体 GTPase，导致形成巨大的板状伪足，从整个圆形细胞延伸出来。(D) 显微注射组成性激活形式的 Cdc42，另一个 Rho 家族成员，导致在细胞周围形成许多长的丝状伪足，与培养基形成黏性连接。这三种 GTPase 对肌动蛋白骨架构建的独特的通用效应是由许多受 GTPase 调控的其他蛋白质分子所介导的

激活的 Cdc42 的主要的靶标是 WASp 蛋白家族的成员。**WASp 蛋白**（WASp protein），类似于 ERM 家族蛋白，能够以无活性的折叠构象和有活性的开放构象两种方式存在。与 Cdc42-GTP 结合能够稳定 WASp 的开放构象，使其结合到 ARP 复合物上。这将强有力的增加 ARP 复合物的肌动蛋白成核活性（图 16-28）。因此，Cdc42 的激活导致肌动蛋白成核作用的增强。Rac-GTP 也能激活 WASp 家族成员，但它还增加 PI（4）P5 激酶的活性，这导致产生 PI（4，5）P_2。前面我们已经知道，PIP_2能够导致正端结合凝溶胶蛋白或 CapZ 的丝的去

帽，因而为肌动蛋白在质膜附近组装提供了更多的位点，这导致巨大的板状伪足和褶皱的形成。Rho-GTP 激活一种蛋白激酶，该蛋白激酶能抑制磷酸酯酶在肌球蛋白轻链上的活动（图 16-67）。增加了网络中肌球蛋白轻链的磷酸化的结果是增加了细胞内可收缩的肌球蛋白活性的值，提高了压力依赖结构如应力纤维的形成。

打开这三种 Rho 蛋白家族成员的机制非常复杂。通过交换 GTP 为 GDP，它们的活性被鸟嘌呤核苷酸交换因子（GEF）增强，已经有 20 多个因子被鉴定，其中一些仅对 Rho 家族 GTPase有特异性，而其他的可能对这三种都有作用。GEF 的上游是各种不同的细胞表面受体。在多数情况下，GEF 偶联受体的激活机制还不清楚。

小结

在真核细胞中，细胞骨架纤维结构各种不同的形式和功能依赖于所有的多功能的辅助蛋白。这三种主要的纤维每种都有一个巨大的、专一的辅助蛋白子集。细胞骨架纤维结构的主要决定性特点是对新丝成核作用起始进程的调控。在主要的动物细胞中，微管在中心体处成核，这是定位于细胞中心附近的复杂装配。与之相反，大多数的肌动蛋白丝在质膜附近成核。

丝组装和去组装的动力学能被辅助蛋白减慢或加速，不论辅助蛋白与游离亚单位结合还是与丝本身结合。这些蛋白质中的一些能够通过结合到丝的末端或将丝割断成小片段而改变丝的动力学。另一类辅助蛋白能通过交联以几何学上确定的方式将丝构建成巨大的有序结构。然而，其他的辅助蛋白通过将丝附着到质膜上而决定细胞的形状和黏着的性质。细胞通过控制各种辅助蛋白的活性介导细胞骨架纤维的重排。

分子马达

多数与细胞骨架结合蛋白可能是称为**动力蛋白**（motor protein）的分子马达。这些特殊的蛋白质结合到极化的骨架纤维上，并且利用源于 ATP 水解循环释放出的能量沿丝稳定的移动。多种不同的动力蛋白共存于每个真核细胞中。它们结合的丝的类型不同，沿丝移动的方向不同，并且它们携带的“货物”不同。许多动力蛋白携带膜包被的细胞器（如线粒体、高尔基体、分泌小泡），将它们运送到细胞中特定的位置。其他分子蛋白导致细胞骨架纤维做相对的滑动，产生的力量驱动如肌肉收缩、纤毛搏动和细胞分裂等现象。

我们在本书中其他地方提到过的一些其他蛋白质和蛋白质的复合体也暗示是沿定向聚合物单向移动的细胞骨架动力蛋白，如 DNA 和 RNA 聚合酶、解螺旋酶以及核糖体。它们都能够利用化学能推动自身沿线形轨迹移动，滑动的方向取决于轨迹的结构极性。它们几乎都是通过偶联核苷三磷酸水解，导致大规模的蛋白质构象变化，从而引发了运动，如第 3 章的解释。

细胞骨架动力蛋白通过一个“头部”区域或者马达结构域（motor domain）同丝束相连，而结构域是同 ATP 水解相偶联。核苷三磷酸循环同构象变化相一致，这些蛋白质在强有力的与丝束结合和不与之结合的两个状态中循环。通过与丝结合、构象变化、丝的释放、构象舒张及与丝的再结合这样的循环机制，动力蛋白和与它相连的负荷沿着丝一同移动（典型的距离是几个纳米）。沿着丝移动的轨迹和方向的性质由马达结构域决定，同时负荷的性质由动力蛋白的尾部决定。

在这部分，我们以描述三类细胞骨架动力蛋白开始，然后描述了它们如何运输被膜的细胞器或如何改变细胞骨架纤维构建的结构的形状的机制，最后描述它们在肌收缩和由微管蛋

白形成的鞭毛运动提供能量的过程中的作用。

肌动蛋白为基础的动力蛋白是肌球蛋白超家族的成员

被鉴定的第一个动力蛋白是**骨骼肌球蛋白**，它在肌肉收缩中负责产生动力。这些肌球蛋白，被称为肌球蛋白Ⅱ（见下面），它是一个狭长的蛋白质，有两条重链和两条轻链，而且每条轻链含有两个拷贝。每条重链的 N 端都形成一个球状头部结构域，该结构域包含了一个产生力量的机制，连着 N 端的是一个非常长的氨基酸序列形成的外延的螺旋式卷曲结构，该结构击倒了重链二聚体化（图 16-51）。这两条轻链的 N 端头部结构域靠得很近，同时长的螺旋型卷曲尾部同它自己尾部的其他肌动蛋白分子相结合。这种尾-尾的相互作用的结果导致形成的巨大的双极“粗肌丝”，这些粗肌丝上有几百个肌球蛋白头部，它们与粗肌丝的两个末端的方向相反（图 16-52）。

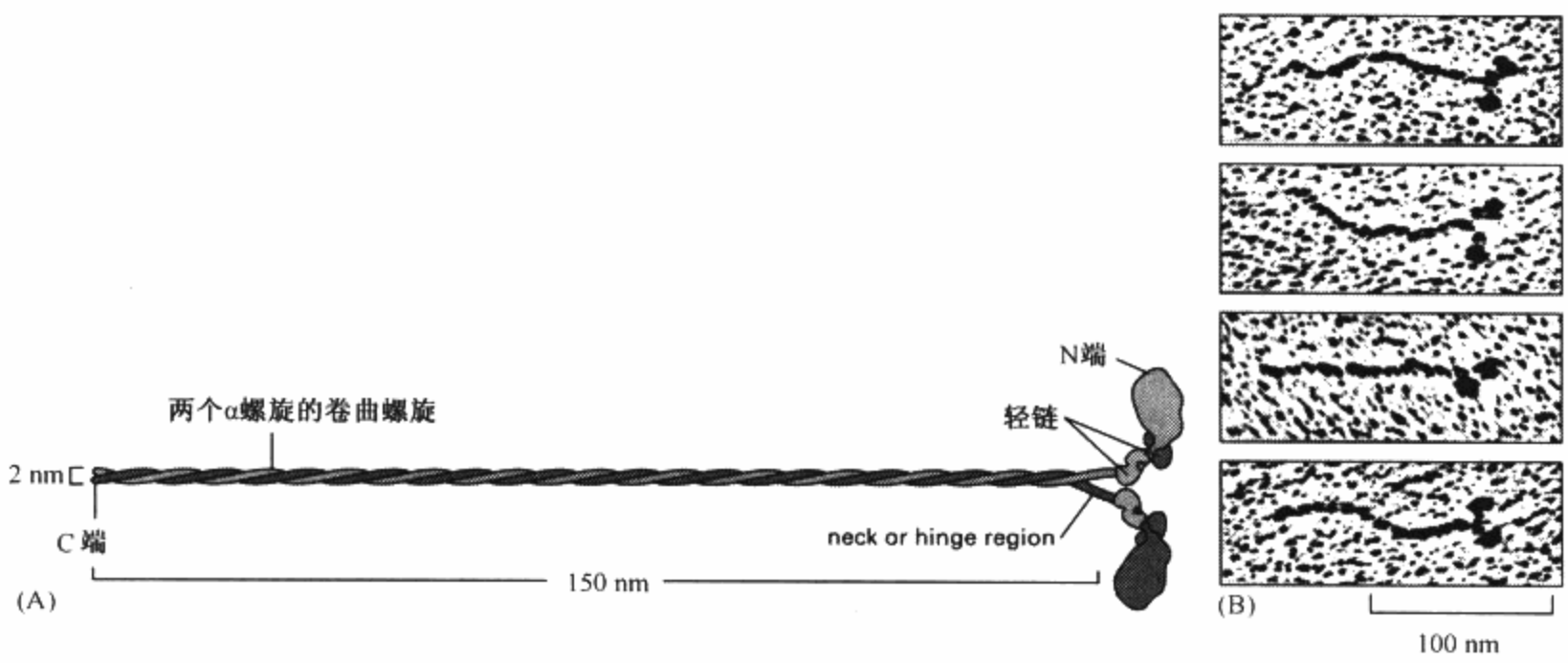


图 16-51　肌球蛋白Ⅱ

（A）一个肌球蛋白Ⅱ分子由 2 条重链（每条约 2000 个氨基酸（绿色））和 4 条轻链（蓝色）。轻链有两种不同的类型，每类在肌球蛋白的头部各有一个拷贝。当重链的两个 α 链互相缠绕形成一个卷曲螺旋时，发生二聚体化，该过程由疏水性氨基酸一规则间距连接而驱动（图 3-11）。这个卷曲螺旋的排列在溶液中形成一个延展的笞鞭，这部分分子被称作尾部。（B）两个球状的头部和尾部可在由铂显示肌球蛋白分子阴影的电镜照片中清晰地看到

每个肌球蛋白头部偶联 ATP 水解，通过利用 ATP 水解释放的能量移向肌动蛋白丝的正端。粗丝上相反方向的头使相反方向的肌动蛋白丝越过彼此的活动部分更加有效。在骨骼肌中，肌动蛋白丝围绕肌球蛋白粗肌丝细致排列形成细肌丝，ATP 驱动的沿肌动蛋白丝的滑动导致肌肉收缩（稍后讨论）。心肌和平滑肌都含有肌球蛋白，虽然它们由不同的基因编码，但有着相似的排列。

当用糜蛋白酶和木瓜蛋白酶消化一个肌肉的肌球蛋白时，释放出一个完整的头部结构域片段（称为 S1）。在体外，单独使用 S1 片段就能引起丝的滑动，为运动活性完全被包含在头部提供了证据（图 16-53）。

最初认为肌球蛋白仅存在于肌肉中，但在 20 世纪 70 年代，研究发现，在包括原生动物细胞在内的非肌肉细胞中存在一个与之类似的两个头部结构的肌动蛋白。几乎同一时间，另一些研究在淡水阿巴米变形虫（*Acanthamoeba castellanii*）发现了肌球蛋白，这个肌球蛋白不像传统的肌球蛋白那样，它只含有一个类似肌肉肌球蛋白头部的动力结构域，而且有一个

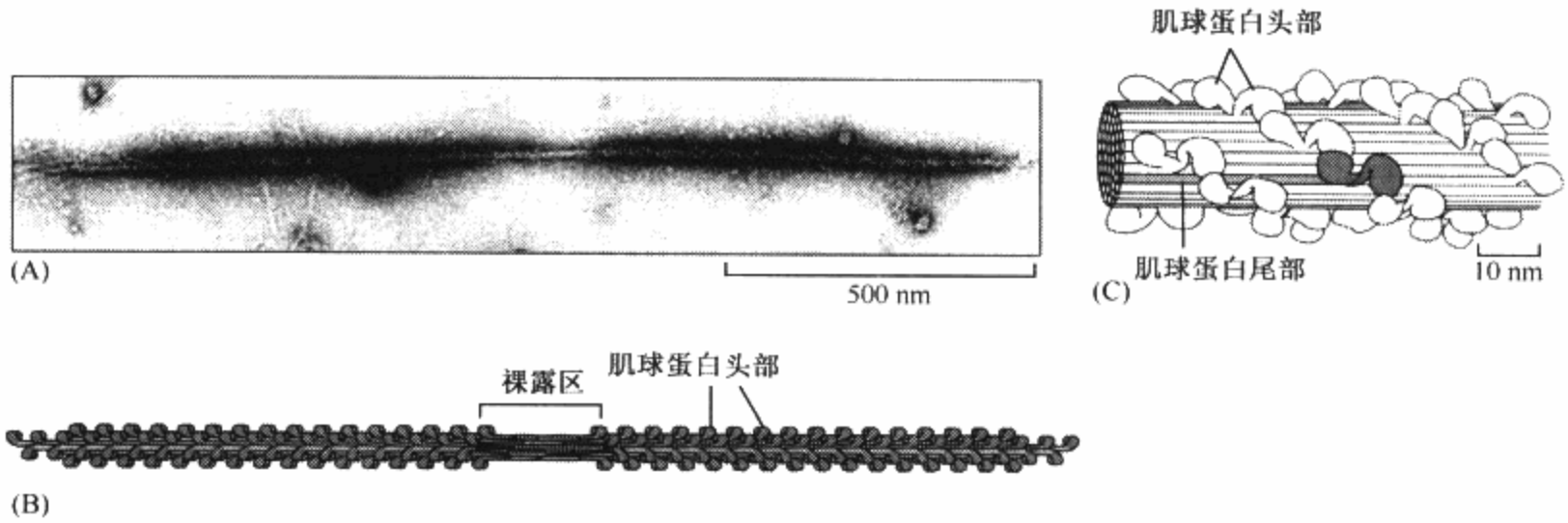


图 16-52　肌球蛋白Ⅱ的双极粗肌丝

（A）从青蛙肌肉中分离的肌球蛋白Ⅱ粗肌丝的电子显微照片。记录的中央的 bare zone，释放头部结构域。（B）非比例绘制的示意图。凭借它们的尾部，肌球蛋白Ⅱ分子聚集在一起，同时它们的头部突出于丝的外部。丝中央的 bare zone 区完全由肌球蛋白Ⅱ尾部组成。（C）肌球蛋白Ⅱ丝的一小部分，根据电子显微照片重建。其中，肌球蛋白分子单体以鲜亮的绿色突出显示

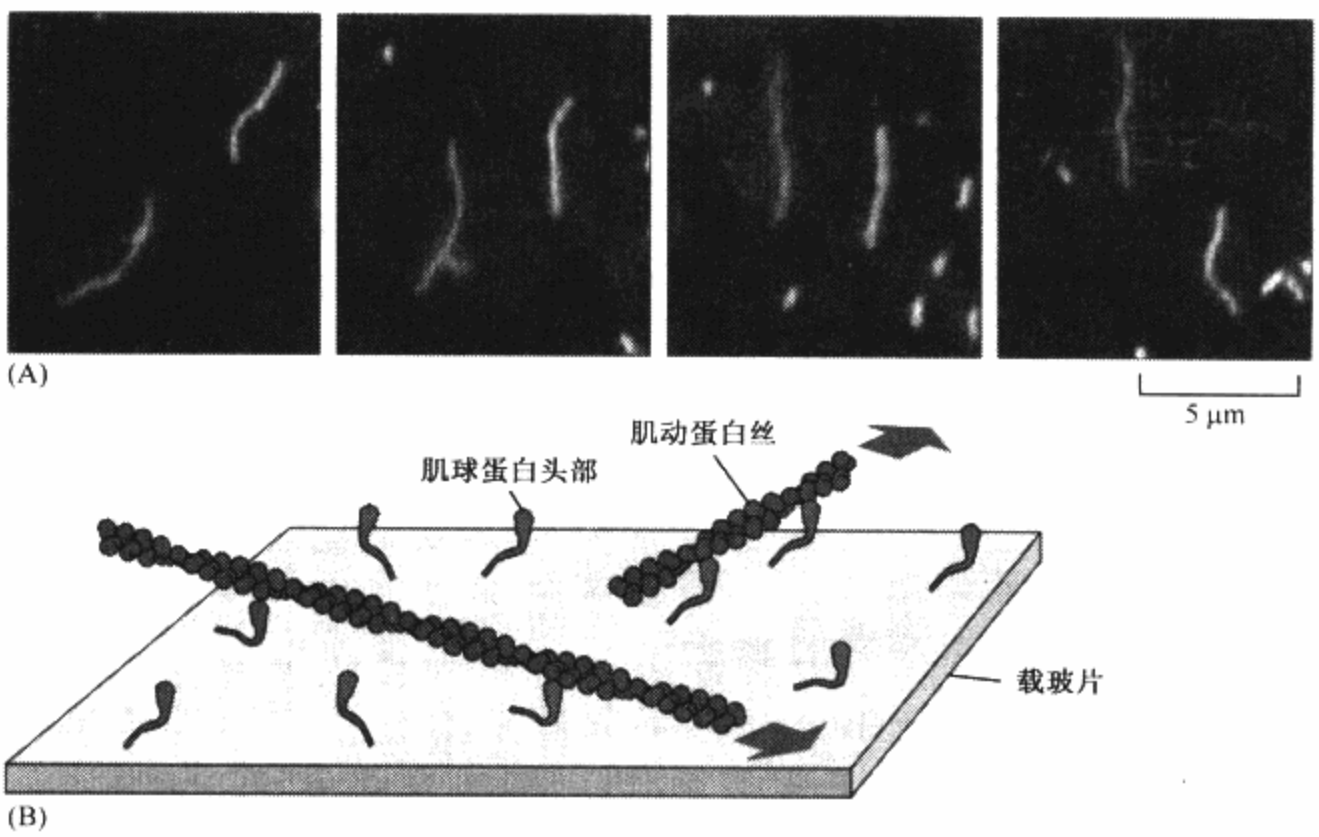


图 16-53　肌球蛋白头部运动活性的直接证据

在这个实验中，纯化的 S1 肌球蛋白头部被附着到载玻片上，然后加入荧光毒伞素标记的肌动蛋白丝以使其结合到肌球蛋白的头部。（A）当加入 ATP，肌动蛋白丝开始沿着表面滑动，归功于多个独立步骤总和，每个独立步骤由许多肌球蛋白头部结合到每个丝上完成。这段中插入的视频图像是每 0.6s 拍摄一次；可以看到两个肌动蛋白丝以大约 4μm/s 的速度朝相反的方向运动。（B）实验简图。大的红色箭头代表了肌动蛋白丝的运动方向

完全不同的尾部。这个分子看起来似乎作为一个单体行使功能，并且被命名为肌球蛋白Ⅰ（只有一个头部）；传统的肌球蛋白被命名为肌球蛋白Ⅱ（有两个头部）。

随后，许多其他的肌球蛋白类型被发现。通常，重链 N 端是一个可辨认的肌球蛋白动力结构域，而 C 端是一个广泛变异的尾部结构域（图 16-54）。新的肌球蛋白类型包括大量的一个头部和两个头部的变体，它们基本都与肌球蛋白Ⅰ和肌球蛋白Ⅱ相关，它们的命名法反映了它们发现的大致顺序。一般地，肌球蛋白尾部（和动力蛋白的尾部）在进化过程中显示了多变性，它们允许蛋白质同其他亚单位形成二聚体，以及与不同的负荷相互作用。

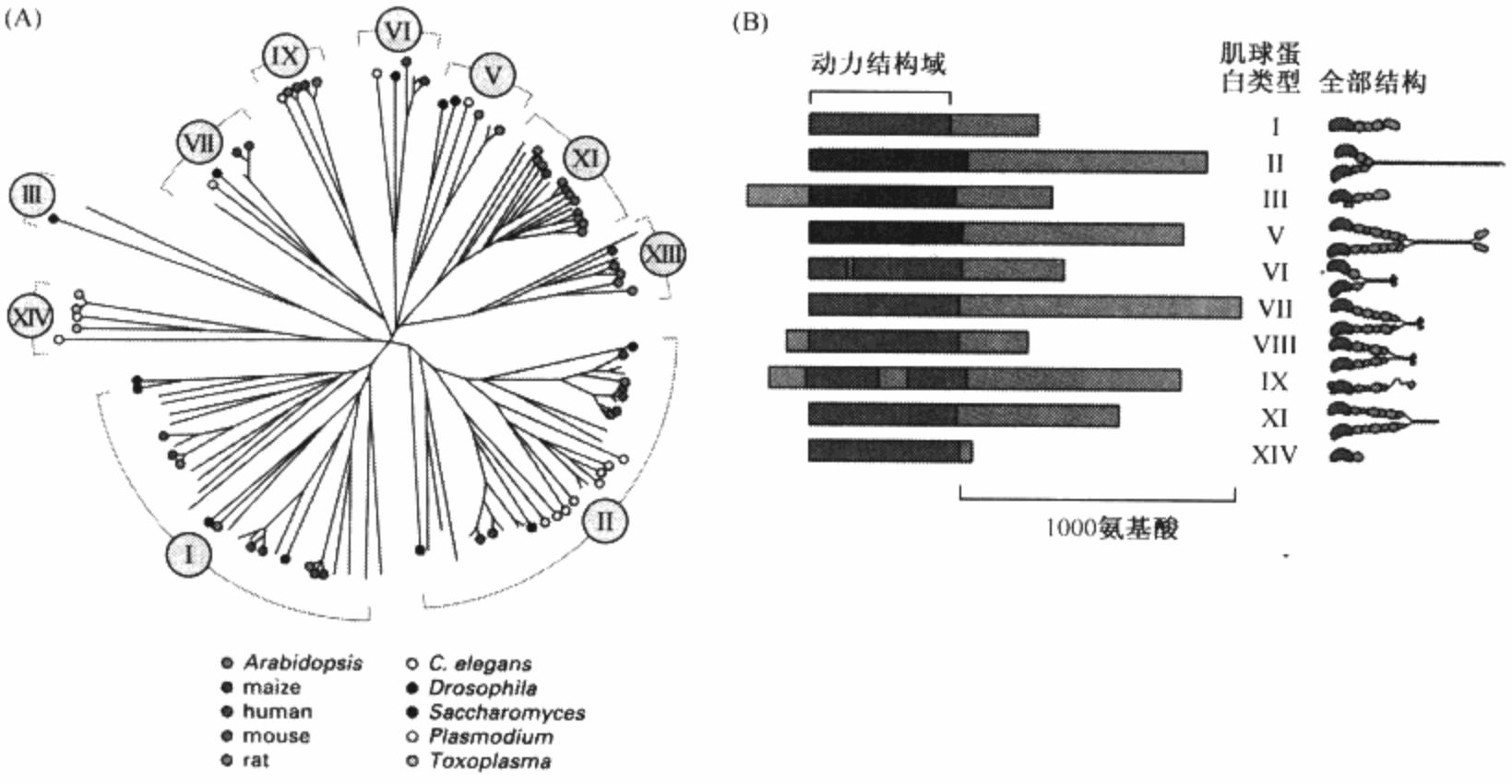


图 16-54　肌球蛋白超家族系统树

（A）一些已知的肌球蛋白超家族中的成员的系统树。单个家族成员的线分离的长度暗示了动力结构域氨基酸序列上差异的数量。带有相似结构的相关的肌球蛋白用指定的罗马数字表示。肌球蛋白的物种来源用有颜色的点表示。有些类型的肌球蛋白（如Ⅰ和Ⅱ）在多种真核生物中都有它们的成员，从动物到植物，乃至寄生原生动物；其他的仅在部分真核生物中发现（例如，XIV，至今为止仅在寄生原生动物比如弓形体属和变形虫中发现）。（B）某些肌球蛋白类型的重链的结构域的比较。所有的肌球蛋白有相似的动力结构域（墨绿色表示），但它们的 C 端尾部（亮绿色）和外延的 N 端（亮蓝色）非常不同。右边是对这些家族成员的分子结构的描述。许多肌球蛋白形成二聚体，一个分子就带有两个动力结构域，但一些（如Ⅰ、Ⅸ和XIV）看起来似乎以单体的形式行使功能，它们仅带有一个动力结构域。肌球蛋白Ⅵ，尽管它的全部结构都类似于其他的家族成员，但它是唯一一个朝向肌动蛋白丝负端移动的成员。在它的动力头部结构域中的一小段插入片段不存在于其他的肌球蛋白中，这可能负责了它的方向改变

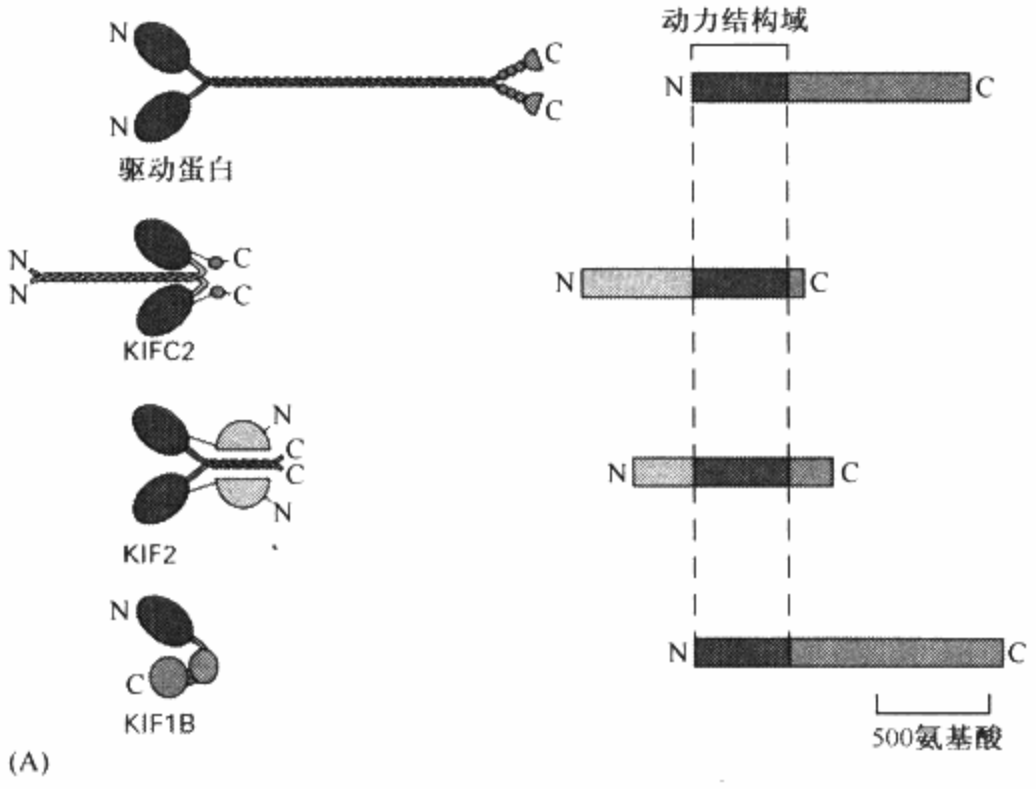
一些肌动蛋白（如肌球蛋白Ⅷ和Ⅺ）只在植物中被发现，而且一些仅在脊椎动物中被发现（肌球蛋白Ⅸ）。然而，多数都存在于所有的真核细胞中，这暗示了肌球蛋白产生于真核生物进化早期。酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）有 5 种肌球蛋白：两个属于肌球蛋白Ⅰ，一个属于肌球蛋白Ⅱ，另外两个属于肌球蛋白Ⅴ。一个可能的推测是这三类肌球蛋白可能是一个真核细胞生存所必需的，而其他的肌球蛋白则在多细胞生物体中承担着更具体化的功能。例如，在线虫（*C. elegans*）中，含有至少 15 个肌动蛋白基因，代表了其中结构上的分类，而人类基因组中含有大约 40 个肌动蛋白基因。

除了一种以外，所有的肌动蛋白都移向肌动蛋白丝的正端，尽管它们移动的速率不同。而例外的就是肌球蛋白Ⅵ，它移向负端。

多数肌球蛋白的功能已经被确定了。肌球蛋白Ⅱ通常与肌肉细胞和非肌肉细胞的收缩活性相关。而且它是胞质分裂，由一个细胞缢缩成两个所必需的（讨论见第 18 章），也是细胞迁移时胞体前移所必需的。肌球蛋白Ⅰ蛋白包含一个辅助的肌球蛋白结合位点或者是一个膜结合位点在它们的尾部，并且它们通常参与细胞内的组织构建和细胞表面的放射性突起。肌球蛋白Ⅴ参与小囊泡和细胞器的转运。肌球蛋白Ⅶ被发现于脊椎动物的内耳中，编码肌球蛋白Ⅶ的基因的某种突变能导致小鼠和人的耳聋。

两种类型微管马达蛋白：驱动蛋白和动力蛋白

驱动蛋白（kinesin）是沿微管移动的马达蛋白。它首次在乌贼的巨轴突中被鉴定，在那里它通过朝向微管正端的步移将膜包围的细胞器从神经元细胞体运送往轴突终末。驱动蛋白在结构上同肌球蛋白Ⅱ相似，它的每个有活性的马达具有两条重链和两条轻链，同时，它还有两个球形的头部马达结构域和一个延长的负责重链二聚体化的卷曲螺旋结构。类似肌球蛋白，驱动蛋白是一个巨大的蛋白质超家族的成员之一，对于它们来说，动力结构域是它们唯一的共同元件（图 16-55）。酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）有 6 个不同的驱动蛋白。线虫（*C. elegans*）有 16 个驱动蛋白，人约有 40 个。



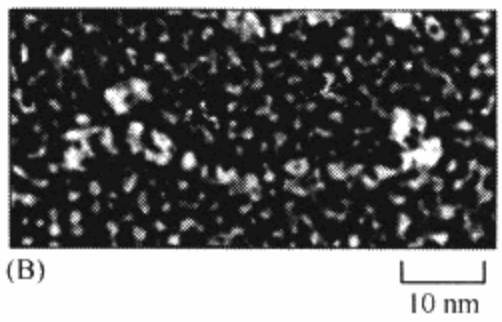


图 16-55　驱动蛋白和驱动蛋白相关蛋白

（A）4 种驱动蛋白超家族成员的结构。像在肌球蛋白超家族中一样，仅动力结构域是保守的。保守的驱动蛋白在重链的 N 端有动力结构域。中间的结构域形成一个长的卷曲螺旋，介导二聚体化。C 端结构域形成一个尾部，同负荷相连接，如一个膜包围的细胞器。KIFC2 是 C 端驱动蛋白家族的一个成员，它包含果蝇蛋白 Ncd 和酵母蛋白 KAR3。这些驱动蛋白常以同主要驱动蛋白移动方向相反的方向移动，即朝着微管的负端而不是正端移动。KIF2 的动力结构域位于重链的中部。它是缺失典型的马达活性，而是通过结合在微管末端以增加微管动态不稳定的驱动蛋白家族的一个成员。因而它们也被称为灾变蛋白（catastrophin）。KIF1B 是一类罕见的驱动蛋白的成员，它们似乎以单体行使功能，并且沿着微管移动膜包围的细胞器。图中没有驱动蛋白 BimC 家族，它们形成的是四聚体。（B）一个驱动蛋白分子的冰蚀电镜照片，左侧为其头部结构域

在驱动蛋白超家族中，至少有 10 个**驱动蛋白相关蛋白**（kinesin-related protein，KRP）家族。它们中多数在重链的 N 端有一个动力结构域，并且朝微管的正端移动。一个特别有趣的家族，动力结构域位于它的 C 端，它朝相反的方向移动，即朝微管的负端移动。一些 KRP 的重链缺乏一个卷曲螺旋序列，而且它们看起来是以单体执行功能的，类似于肌球蛋白Ⅰ。另外一些是同源或异源二聚体。至少一个 KRP（BimC）能够通过尾部结构域自我连接，形成一个双极的马达，沿着与微管相反的方向滑动，类似肌球蛋白Ⅱ粗肌丝沿肌动蛋白丝那样滑动。多数的驱动蛋白在尾部有一个结合位点，它用来同一个膜包围的细胞器结合，或者同另外一个微管结合。驱动蛋白超家族中的许多成员在有丝分裂、减数分裂纺锤体形成和细胞分裂染色体分离过程中起特殊的作用。

动力蛋白（dynein）是一个负端定向的微管马达家族，但它们同驱动蛋白超家族没有关系。它们由两三个重链（重链中含有动力结构域）和大量巨大多变的轻链组成。动力蛋白家族有两个主要的分支（图 16-56）。其中一个主要的远古的分支包括细胞质动力蛋白（cytoplasmic dyneins），它们是典型的重链同源二聚体，两个巨大的动力结构域作为头部。细胞质动力蛋白存在于所有的真核细胞中，并且它们对囊泡运输以及高尔基体在细胞中心处的定位起着重要的作用。基因丝动力蛋白（axonemal dyneins）是另外一个巨大的分支，包含同源或异源二聚体，每个带有两三个动力结构域头部。它们高度特化，为了能迅速而有效地沿微管移动以驱动纤毛和鞭毛的拍打。第三个是一个较小的分支，同细胞质动力蛋白有更大的序列相似性，但看起来却参与纤毛的拍打活动。

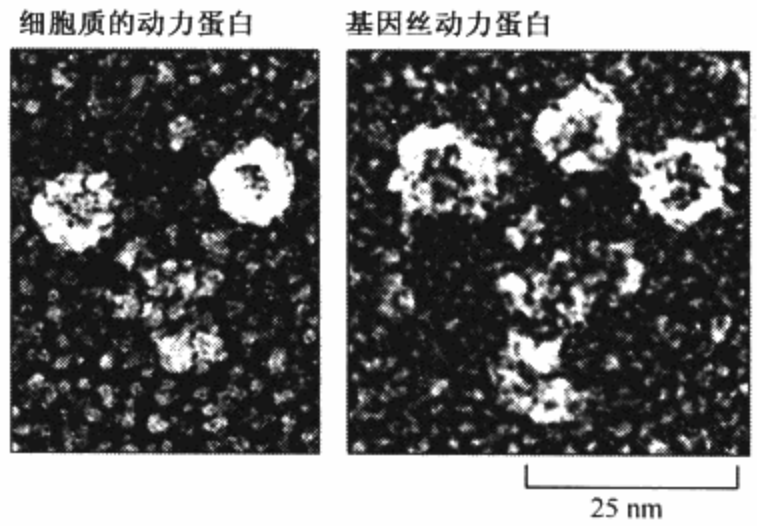


图 16-56　动力蛋白

一分子的细胞质动力蛋白和一分子的基因丝动力蛋白的冰蚀电镜照片。像肌球蛋白Ⅱ和驱动蛋白，细胞质动力蛋白是一个两个头部的分子。如图所示，基因丝动力蛋白有三个头部。图中显示，与其他的肌球蛋白或驱动蛋白相比，动力蛋白的头部更加巨大

动力蛋白是已知最大的分子马达，并且它们也是最快的：在试管中，基因丝动力蛋白能够以 14μm/s 的惊人速率移动。相比之下，最快的驱动蛋白移动速率仅为 2～3μm/s。

肌球蛋白和驱动蛋白在结构上的类似暗示了一个共同的进化起源

肌球蛋白的动力结构域实际上比驱动蛋白要大，它约有 850 个氨基酸，而驱动蛋白约 350 个氨基酸。这两类动力蛋白沿着不同的丝移动，它们有不同的动态属性，并且它们没有氨基酸序列上的相似性。然而，肌球蛋白和驱动蛋白动力结构域的三维结构的确定揭示了这两种动力结构域构建于相同的核心之上（图 16-57）。两种类型动力蛋白共同的中央核心前体有 ATP 结合位点，并且机制是通过 ATP 水解引致构象变化。结构域的大小和路径选择上的

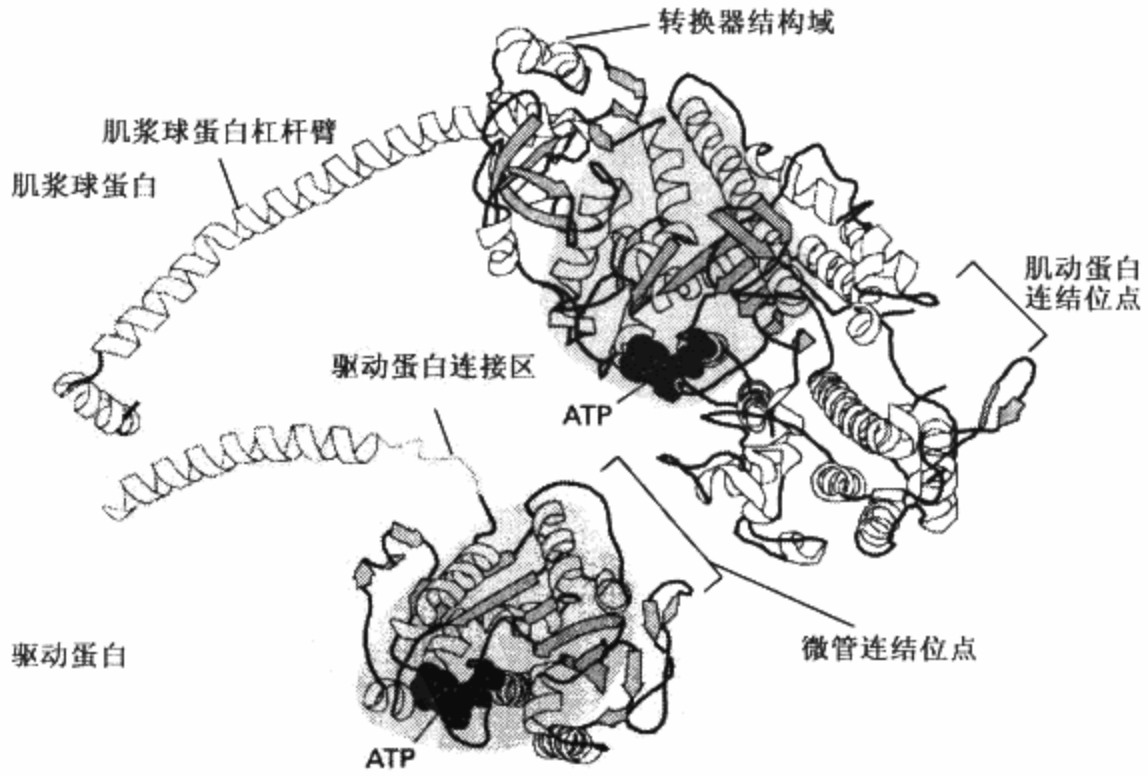


图 16-57　肌球蛋白和驱动蛋白头部的 X 射线晶体结构

肌动蛋白和驱动蛋白中心的核苷酸结合结构域在结构上非常相似。两个马达大小和功能的不同归因于动力结构域上聚合物结合部分和前部转导部分的巨大差异

差异被归于从中央轴延伸出的巨大的环。这些环上分别包含着肌动蛋白结合位点和微管结合位点。

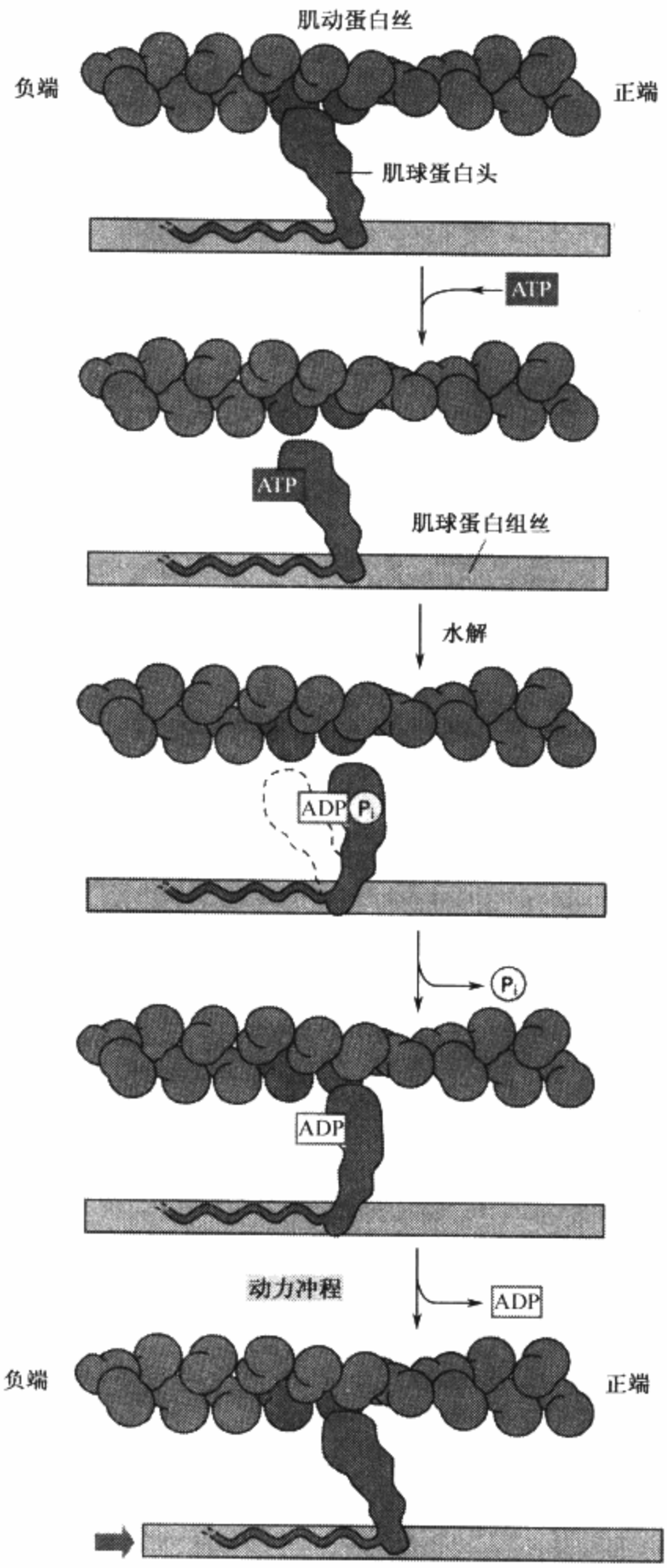
中央轴如何参与前体形成的一个重要的线索源于对马达核心显露出与 Ras 超家族的小 GTP 酶结合位点的结构相似性的观察。像第 3 章中讨论的那样（图 3-74），这些蛋白质在它们同 GTP 结合和同 GDP 结合时的形式中显示了不同的构象：核苷酸结合部位上可变的开关环是同 GTP 结合状态下 γ-磷酸的紧密接触点，但当水解的 γ-磷酸被释放出来时这些环就摆向外侧。尽管两种动力蛋白的移动细节不同，并且水解的是 ATP 而非 GTP，末端磷酸的存在与缺失导致活性位点上相对较小的结构变化，它被同样地放大，导致蛋白质不同部分的旋转。在驱动蛋白和肌球蛋白中，一个开关环分别广泛地同蛋白质中参与微管和肌动蛋白结合的部分相互作用，允许由 ATP 水解循环导致的结构变化转换到同聚合物结合的状态。这种在聚合物结合状态与核苷酸水解位点的转换看起来像从两个方向工作，因而动力蛋白的 ATP 酶活性因同它们的丝结合而被强激活。

动力蛋白通过偶联 ATP 水解产生力量致使构象变化

尽管细胞骨架动力蛋白和 GTP 结合蛋白都是利用它们核苷三磷酸结合位点的构象变化产生同一个配体蛋白的周期的相互作用，但是动力蛋白还有一个进一步的需求：每一个结合和释放的循环都必定会推进它们沿丝的一个方向前进并结合到丝上新的结合位点上。对这样的单向的移动，一个动力蛋白必须利用 ATP 结合和水解释放的能量来产生一个蛋白质分子的巨大运动。对于肌球蛋白，沿着肌动蛋白丝运动的每一步是通过 8.5nm 长的 α 螺旋或杠杆臂（lever arm）的摆动产生的（图 16-57），它们在结构上是被结合的轻链所稳定的。这个杠杆臂的基部紧邻着头部，是一个注射器样的螺旋，它将头部 ATP 结合裂隙的运动同被称为转换器结构域连在一起。这点的一个小变化能够摆动螺旋，像一个长的杠杆，导致螺旋的远端移动约 0.5nm。肌球蛋白这些结构上的变化使它对肌动蛋白丝的亲和力被加倍，这样允许肌球蛋白头部从它在肌动蛋白丝上的一个位点上释放下来并在另一个位点上重新结合到肌动蛋白丝上。核苷酸结合、水解和磷酸释放的循环过程的化学机制产生了单向运动（图 16-58）。肌球蛋白的亚家族肌球蛋白Ⅵ，它朝向后移动（在肌动蛋白丝上朝负端移动），其转换器可能位于不同的方向，因此，小螺旋的同样的注射器样的运动导致了杠杆臂旋转到相反的方向。

在驱动蛋白中，取代了杠杆臂的摇动，在核苷酸结合位点上的开关环的小运动调节着马达头部结构域同长的连接区域的结合和脱离，这个长的结合域将马达头部的一个末端连接到另一端的卷曲螺旋二聚体结构域上。当前部的驱动蛋白头部在着力前结合到微管上时，它的连接区域相对的没组织；当 ATP 结合到头部上时，它的连接区域沿着头部停靠，将第二个头部向前抛出到原纤维上新的能够附着的位置，这个新的位置比原来的位置距微管正端近了 8nm。两个头部的核苷酸水解是非常一致的，因此这个连接区域的结合和解离循环能够允许两个头部马达以“叠手”（hand-over-hand）的方式移动［图 16-59（A）］。

卷曲螺旋结构域看起来既同驱动蛋白二聚体的两个头部的机械化学循环相一致，又决定了它的运动方向。多数驱动蛋白超家族的成员的 N 端有动力结构域，并朝着微管的正末端移动。少数超家族成员的动力结构域在 C 端，并且朝负端移动。既然这两种类型驱动蛋白的动力结构域本质上是相同的，那么它们如何能够朝相反方向移动呢？答案似乎在于它们头部的连接方式。从驱动蛋白超家族向前步移和向后步移的成员同微管结合的高分辨率照片中可以观察到，两者头部同微管的结合并没有什么区别，但未结合时的头部的定向不同。第二个头部显著的倾斜向下一个结合位点，而两者在这种倾斜上的差异决定了马达运动方向的不同



附着： 在图中所示的循环开始时，没有结合核苷酸的肌球蛋白头以僵直构象方式（因其负责“尸僵”而得名）紧紧地附着在肌动蛋白丝上。在处于收缩状态的肌肉中，这一状态极其短暂，因为ATP分子的结合能使之迅速终止。

释放： 一个ATP分子与肌球蛋白分子头部的“背部”（即距肌动蛋白丝最远的一侧）的大裂隙结合，立即使形成肌动蛋白结合位点的结构域的构象发生轻微变化。这一变化降低了头部与肌动蛋白的亲和力，并允许它沿着肌动蛋白丝移动。（图中所示头部与肌动蛋白之间的空隙强调了这一变化，尽管头部实际上很可能非常靠近肌动蛋白。）

直立： 裂隙像蛤壳一样围绕ATP分子关闭，并促使其形状发生大变化，使得头部沿肌动蛋白丝移位约5nm。接着ATP水解，但产生的ADP和无机磷(P_i)仍与该蛋白紧密结合。

产生力： 肌球蛋白头部与肌动蛋白丝上新位点的微弱结合促使由ATP水解所产生的无机磷释放，同时头部与肌动蛋白丝紧密结合。这一释放产生动力冲程——产生力的形状变化，在此期间头部重新恢复至原来的构象。在动力冲程过程中，头部失去结合的ADP，由此回到一个新循环的起始状态。

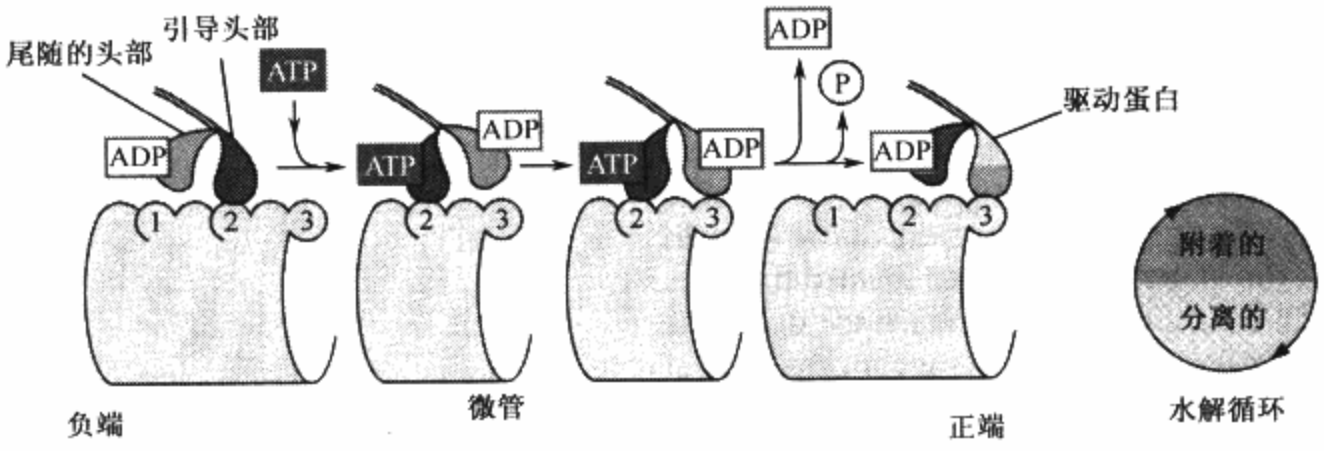
附着： 在循环结束时，肌球蛋白头部再次与肌动蛋白丝以僵直构象方式紧密结合。注意头部已移至肌动蛋白丝上的一个新位点。

图 16-58　肌球蛋白沿肌动蛋白丝步移时结构变化的循环

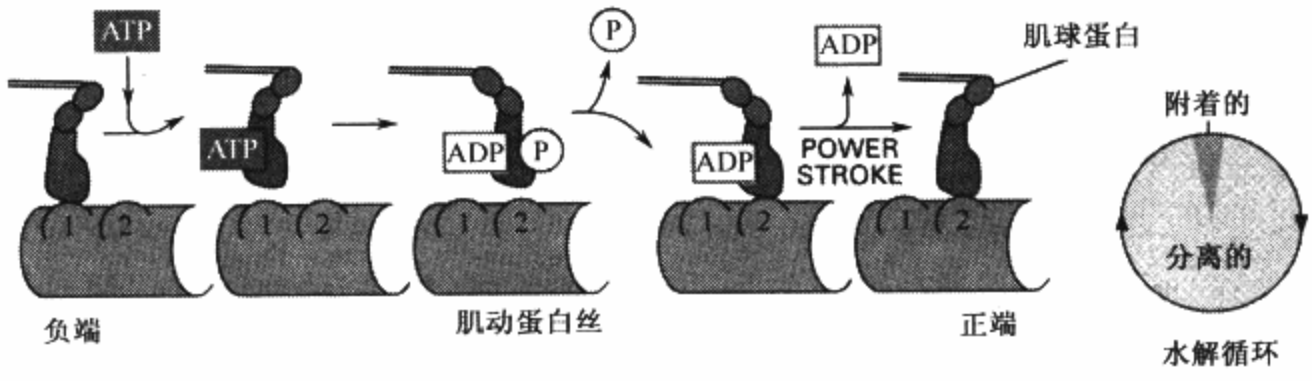
（摘自 I. Rayment et al. *Science* 261：50～58，1993. © AAAS）

（图 16-60）。

尽管肌动蛋白和驱动蛋白经历了相似的机械化学循环，但两种情况下机械和化学循环精确偶联的本质不同（图 16-60）。例如，没有核苷酸时的肌球蛋白紧紧地结合在它的肌动蛋白



(A) 驱动蛋白



(B) 肌球蛋白

图 16-59　肌球蛋白Ⅱ和驱动蛋白机械化学循环的对比

两个代表水解循环的圆周中的阴影表明了每一个动力蛋白在连接和分离状态是循环的比例。(A) 总结了驱动蛋白 ATP 水解和构象的偶联。在循环的开始，驱动蛋白的两个头部之一，前部的或引导的头部（墨绿色）被结合到微管上，带着后面的尾随的头部（亮绿色）。ATP 与前面头部的结合导致后面的头部被向前扔出，超过了引导头部的结合位点，到了距微管正端的更近一步的结合位点上。第二个头部（现在在前面）释放 ATP 的同时第一个头部（现在在后面）水解 ATP，以此导致二聚体向后，但两个头部已经交换的相对位置，而且动力蛋白已经沿微管的原纤维向前移动了一步。在这个循环中，每一个头部大概有 50%的时间同微管结合，50%的时间同微管分离。(B) 肌球蛋白Ⅱ的 ATP 水解和构象变化循环的总结。肌球蛋白与肌动蛋白丝紧密结合开始它的循环，此时不与核苷酸偶联，称为“僵直”状态。ATP 结合头部从丝上释放出来。发生 ATP 水解时，肌球蛋白头部同丝分离，导致头部称为假设的水龙头的构象，尽管 ADP 和无机磷酸仍然紧紧地同头部结合。当头部重新结合到丝上时，释放磷酸，然后释放 ADP，引发着力手法沿丝移动。ATP 结合使头部释放允许循环的重新开始。在肌球蛋白循环中，肌球蛋白仅有 5%的时间与肌动蛋白丝相结合，这将允许多个肌球蛋白同时工作

丝上，被称为“僵直”状态，并且同 ATP 结合后从丝上释放下来。与之相反，当 ATP 同驱动蛋白结合时，驱动蛋白同微管结合形成类似于僵直的状态，同时 ATP 的水解促进了它从微管上的释放。

因此，细胞骨架动力蛋白以一种类同于 GTP 结合蛋白的方式行使功能，除了在动力蛋白中，偶联核苷酸水解的小的构象变化被特殊的蛋白质结构域放大（肌球蛋白中的杠杆臂和驱动蛋白中的连接区域）产生大规模的构象变化以使动力蛋白沿丝移动。GTP 酶和细胞骨架动力蛋白的相似性通过对一个 GTP 结合蛋白（细菌的延伸因子 G）的观察被扩展，该蛋白质将 GTP 水解的化学能转变为 mRNA 分子在核糖体中的定向运动。

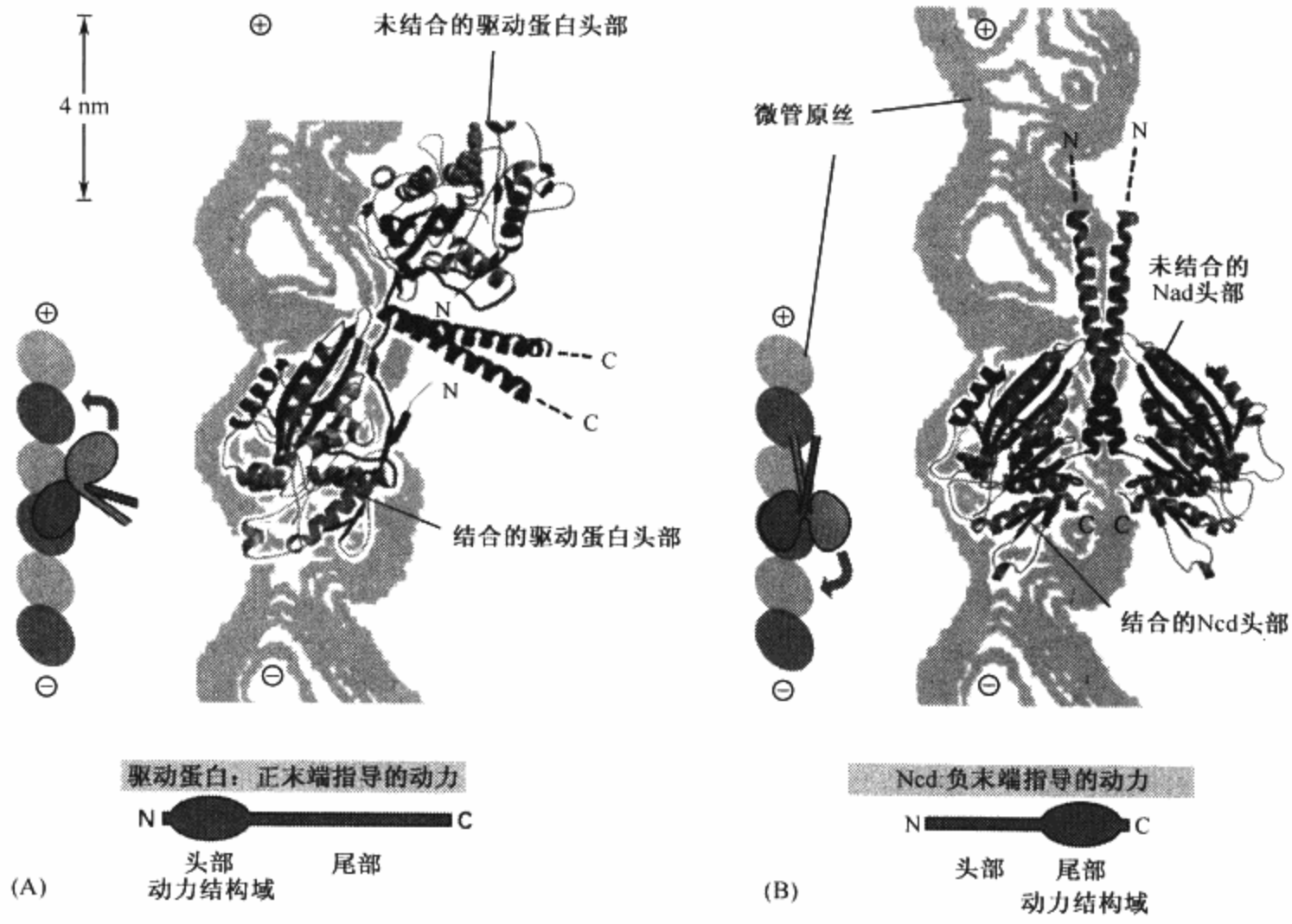


图 16-60　同微管结合的前后反向定向移动的驱动蛋白超家族

这些图片是通过合适的游离肌球蛋白二聚体结构（X 射线衍射晶体分析法得到）加上一个的分辨率二聚体同微管结合的图片（由冷冻电子显微镜术得到）产生的。（A）保守的驱动蛋白，动力结构域在蛋白质的 N 端，同时它们朝微管的正端移动。当二聚体的一个头部结合到微管上时就进入了后面头部的状态（其上有 ATP 的结合位点），第二个未结合的头部指向微管的负端，等待进入下一步。（B）Ncd，一个负端定向的驱动蛋白，它的动力结构域位于 C 端，形成反方向的二聚体

动力蛋白的动力学符合细胞函数

肌球蛋白和驱动蛋白超家族中的动力蛋白显示出了显著的能动多样性，远远超出了它们可选的不同的聚合物。最引人瞩目的是，一个保守的驱动蛋白二聚体以高度持续的方式移动，在移动过程中经历成百上千次的 ATP 循环。肌球蛋白Ⅱ则相反，并不是持续的移动而且在离开微管前沿肌动蛋白丝只移动一步或者几步。这些不同对于动力蛋白执行多种不同生物学功能至关重要。少量的驱动蛋白分子就能将线粒体转运到神经细胞轴突，因而需要一个高水平的持续合成能力。与之相反，骨骼肌的肌球蛋白从不使用单个的分子，而是肌球蛋白Ⅱ分子巨大排列的一部分。这里持续合成能力将抑制生物学功能，因为有效的肌肉收缩需要每个肌球蛋白头部执行它的着力手法并迅速离开，以避免干扰其他的头部同该肌动蛋白丝的结合作用。

驱动蛋白移动的高度持续合成能力有两个原因。其一是，一个驱动蛋白二聚体的两个动力头部的机械的化学循环间是相互协调的，因此一个驱动蛋白头部不能离开另一个而是并列的结合。这种协调性允许动力蛋白以步移的方式操作，而不允许携带的细胞器从微管散去。肌球蛋白Ⅱ二聚体的肌球蛋白头部间没有很明显的一致性。驱动蛋白移动的高度持续合成能

力的第二个原因是它消耗了大部分紧紧绑定于微管的 ATP 循环。对于驱动蛋白和肌球蛋白，两者的构象变化都是通过着力运动产生的力量而发生的，同时动力蛋白被紧紧绑定在它的聚合物上，在动力蛋白不绑定时，重新的着力为下一步做好了准备。就像图 16-59 所示，肌球蛋白处于紧紧绑定状态的时间仅占整个 ATP 循环的 5%，剩下的时间都处于分离状态。

在肌球蛋白获得速度持续高速合成时失去了什么？动力蛋白头部处于一种能够同相应的肌动蛋白丝相互作用的排列方式，一系列相关的肌球蛋白在一个单个循环中能够移动相当于 20 步的距离，而驱动蛋白只能移动两步。因此，肌球蛋白能够显著地驱动丝的滑动，而且远远比驱动蛋白迅速得多，尽管水解 ATP 的速率和分子的长度相当。

每种动力蛋白，移动速率变化很大，肌球蛋白可从 0.2μm/s 变化到 60μm/s，驱动蛋白可从 0.02μm/s 变化到 2μm/s。这些不同起源于一个有规则的机械化学循环。在一个给定的时间内一个单独的肌动蛋白分子能够移动的步数，可以通过增加动力蛋白内部 ATP 的速率或减少与丝结合状态在循环中所占的时间比例来增加。此外，每一步的大小能够通过改变杠杆臂的长度或螺旋摆动的角度来改变（图 16-61）。这些参数中任何一个在肌球蛋白和驱动蛋白家族中的不同成员上有轻微的变化，这与蛋白质序列和结构的轻微差异相一致。每个功能由和它尾部结构域相连接的负荷所决定的动力蛋白的速度和持续合成的行为，根据特定细胞的需要在进化过程中已经被规定了。

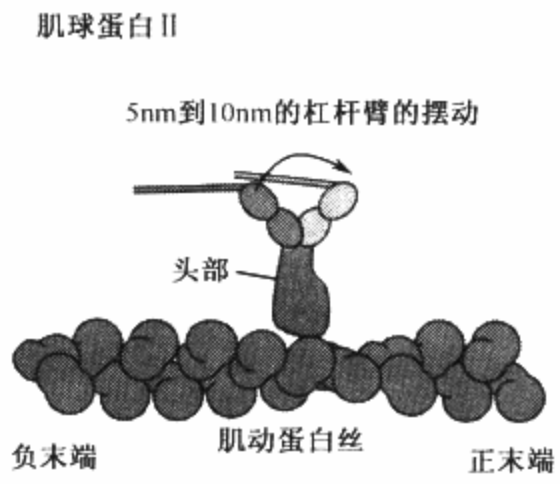


图 16-61　杠杆臂在动力蛋白步移大小中的作用

肌球蛋白Ⅱ的杠杆臂比肌球蛋白Ⅴ的短很多。头部在摆动它的杠杆臂进行着力运动时是以相同角度进行的，因此肌球蛋白Ⅴ比肌球蛋白Ⅱ的步伐更大

动力蛋白介导的膜被细胞器的胞内运输

间期细胞中细胞骨架马达的一个主要功能是膜被细胞器的运输和定位。驱动蛋白最初是在蛋白质负责轴突快速运输、线粒体的迅速移动、分泌囊泡的前体和各种各样的突触组分沿轴突中的微管向远端的神经末端运输的过程中被鉴定的。尽管多数细胞中的细胞器不需要移动这么长的距离，但它们朝两极分化的运输是必需的。间期细胞中典型的微管排列是以负端靠近细胞中央在中心体附近，正端延伸向细胞外围。因此，细胞器朝细胞中央的向心运动需要负端定向动力蛋白（如细胞质动力蛋白）的作用，而朝向外围的离心运动需要正端定向的动力蛋白（如驱动蛋白）。

微管和微管马达在细胞内膜系统行为中作用的最好例证是对内质网和高尔基体细胞器的组织。内质网小管网络同微管连接并延伸至细胞的边缘，而高尔基体被定位在中心体附近。当用药物如秋水仙素（colchicine）、诺考达唑（nocodazole）处理细胞使其内微管解聚，ER 分散到细胞的中央，而高尔基体碎片分散到细胞质中（图 16-62）。在体外，驱动蛋白能够将由 ER 驱动的膜限制在微管上，同时朝微管的正端移动，向外拖拽着 ER 膜到管状突起处并形成一个类似于胞内的 ER 的膜网。同样，ER 小管朝细胞外围的离心运动同活细胞中的微管生长相联系。相反，驱动蛋白是高尔基体定位于细胞中心附近，沿微管朝中心体处的负端运动所必需的。

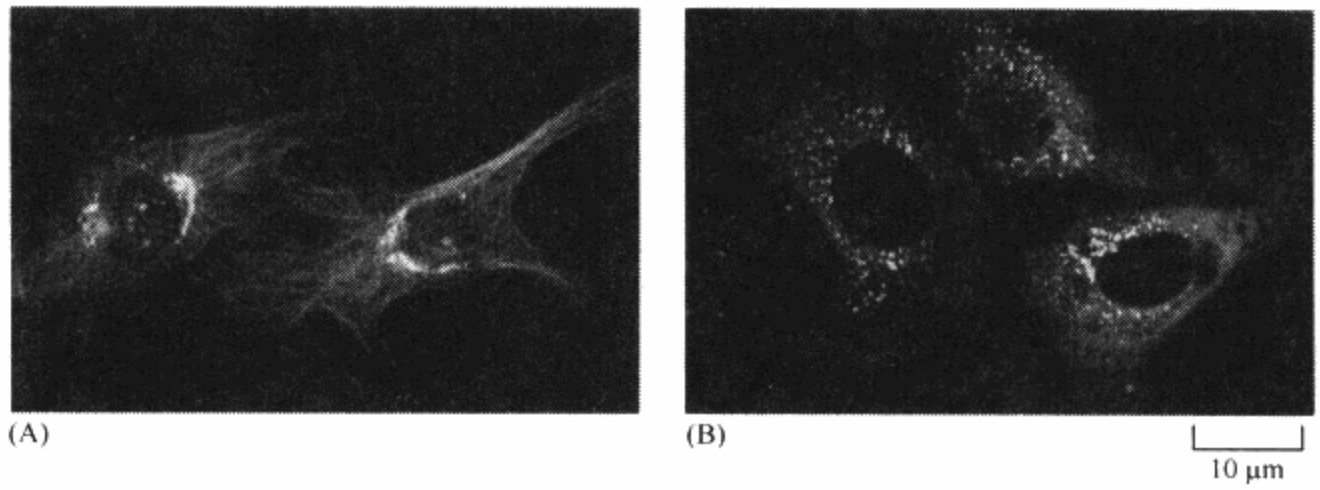


图 16-62　高尔基体装置上微管解聚的效果

（A）在这个内皮细胞里，微管用红色标记，高尔基体用绿色标记。只要微管系统保持完整，高尔基体就位于中心体附近，并紧邻细胞中央的核。右边的细胞处于间期，拥有一个单一中心体。左侧细胞处于前期，复制过的中心体已经移动到核的对立两侧。（B）经过暴露于能引起微管解聚的 nocodazole（见表 16-2），高尔基体装置片段化并向整个细胞分散开来。

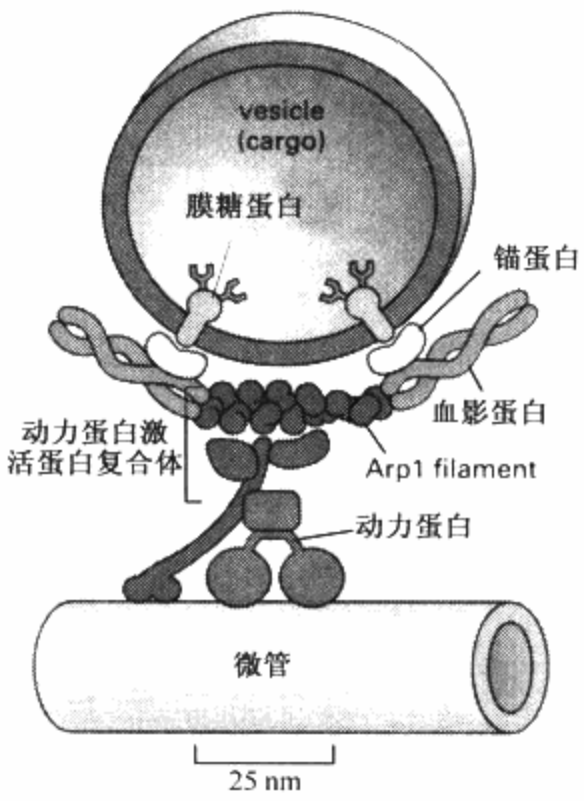


图 16-63　一种膜包围细胞器的动力蛋白附属物的模型

动力蛋白需要大量能和膜包围的细胞器联合的附属蛋白的存在。动力蛋白激活蛋白是一个大的复合体（红色），包括与微管微弱结合的部分、与动力蛋白自身结合的部分以及形成小的由肌动蛋白相关蛋白 Arp1 构成的肌动蛋白样纤维

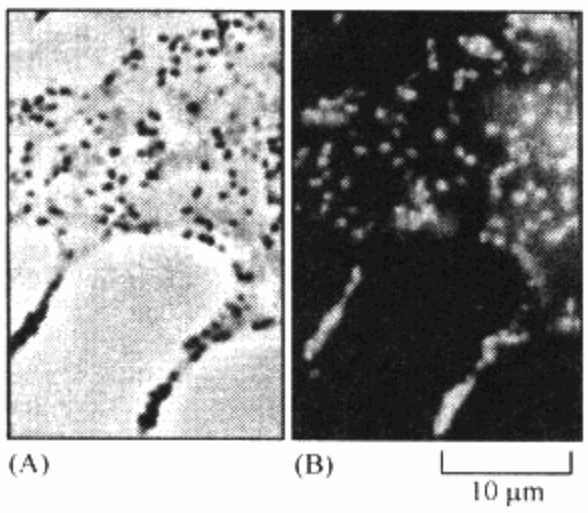


图 16-64　黑色素体上的肌球蛋白 V

（A）从小鼠中分离的黑素细胞部分位相磁共振影像（phase-contrast image）。黑色点是黑色素体，它们是充满皮肤黑色素的膜性细胞器。（B）肌球蛋白 V 荧光抗体标记的相同细胞。每一个黑色素体都结合着大量的这样的马达蛋白（摘自 X. Wu et al., *J. Cell Sci.* 110：847～859，1997. The company of Biologist）

特异性的动力蛋白上不同的尾部和它们所关联的轻链允许马达连接到它们相应的细胞器负荷上。例如，膜连接的动力受体就是一个证明，它们被分选到特异的附膜的区域，然后直接或间接地同适当的驱动蛋白家族成员的尾部相互作用。这些受体中的一个看起来似乎是淀粉体的前体蛋白——APP，它直接结合在驱动蛋白-Ⅰ的尾部轻链上，同时被认为是神经细胞轴突中的一个跨膜动力蛋白的受体。这些蛋白质的异常处理将产生老年疾呆症的疾病，讨论见第 15 章。

对于动力蛋白，同膜的连接被认为是由大量的小分子所介导的。细胞质动力蛋白本身是一个巨大的蛋白质复合物，同时它需要与叫作动力蛋白激活蛋白（dynactin）的第二大蛋白复合体相联结，以便进行有效地细胞器转移（图 16-63）。

马达蛋白的功能可被调控

细胞可以调控马达蛋白的活性，从而改变镶嵌在细胞膜上的细胞器官的位置甚至整个细胞的运动状态。最生动的例子之一是鱼黑素细胞（melanocytes）。这些负责迅速改变皮肤的颜色，存在于几种鱼类体内的巨细胞，含有巨大的色素颗粒，这些颗粒可以在神经或者激素的刺激下改变位置（图 16-65）。这些色素颗粒通过沿着由微管形成的广泛网络进行聚集或者分散。这些微管的负极（minus end）聚集在位于细胞中心的中心体（centrosome），正极（plus end）则分散在细胞的外围。对单个色素颗粒的跟踪显示向内的运动迅速而平滑，而向外的运动则多停顿，并且伴有频繁的倒退（图 16-66）。胞质动力蛋白（dynein）和驱动蛋白（kinesi）都与色素颗粒结合。多停顿的向外运动显然源于两种马达蛋白的激烈竞争，而最终整体上驱动蛋白占据了优势。当驱动蛋白轻链在触发皮肤变色的刺激下磷酸化，驱动蛋白失

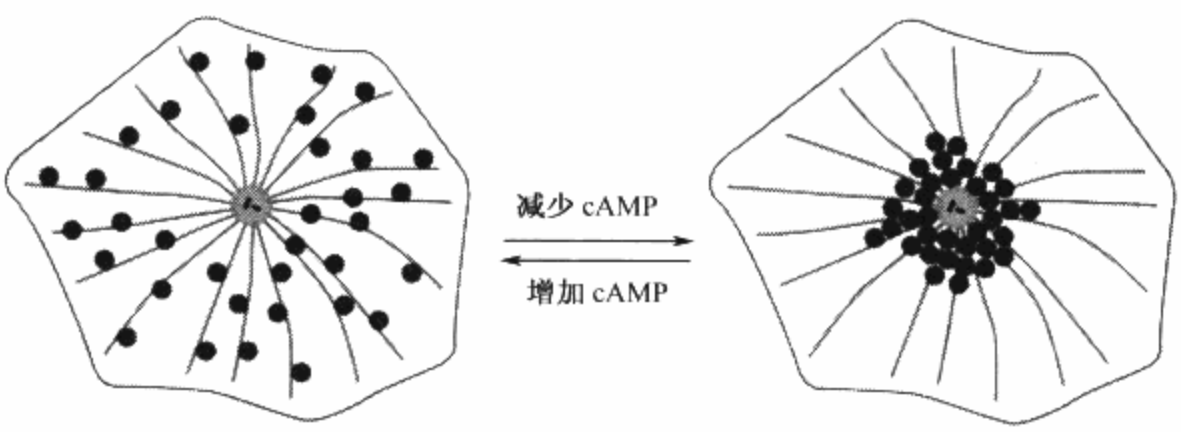


图 16-65　鱼色素细胞中黑色素体运动的调控

这些负责迅速改变皮肤的颜色，存在于几种鱼类体内的巨细胞，含有巨大的色素颗粒或黑色素体（棕色）。这些颗粒可以在神经或者激素的刺激下改变位置。（A）色素细胞的示意图，显示了黑色素体在应答细胞内环腺苷酸（cAMP）的增长或减少时分别分散或聚集。两个重新分配过程都沿着微管发生。（B）非洲丽鱼鳞片单细胞的亮视场图像，显示它的黑色素体分散于胞质（左）或聚集于细胞中心（右）［（B），经 Leah Haimo 许可］

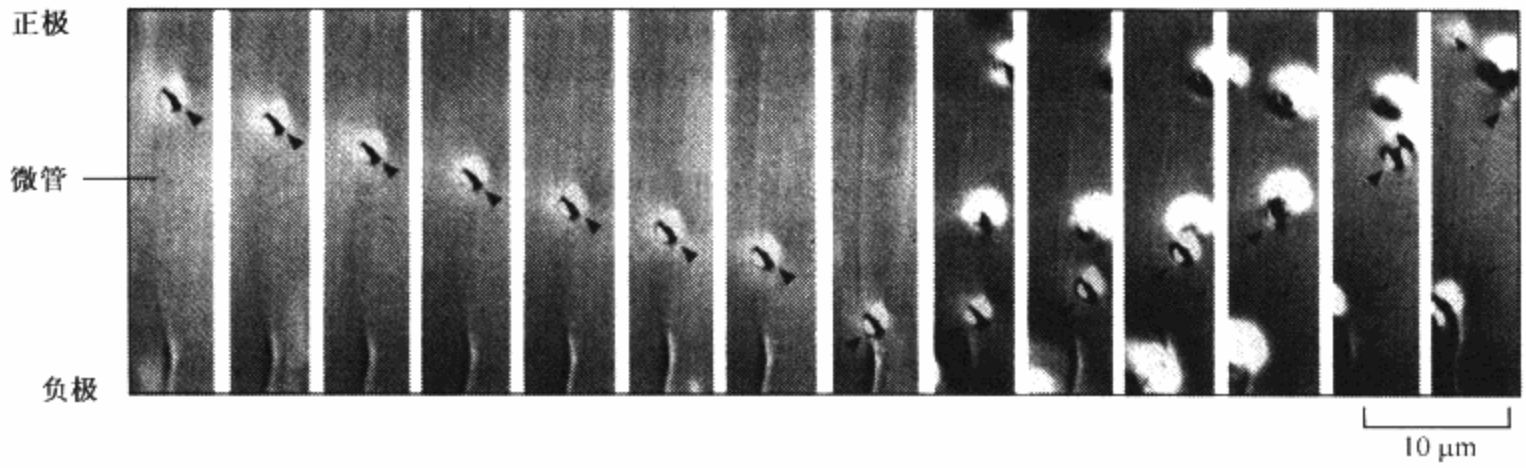


图 16-66　黑色素体在微管上的双向运动

一个单独的黑色素体（黄色）沿着玻片上的一根微管从正极向负极运动。在图像序列的中途颗粒突然改变方向，从负极向正极运动（摘自 S. L. Rogers et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 3720～3725, 1997. © National Academy of Sciences）

活，胞质动力蛋白得以自由牵引色素颗粒迅速向细胞中心移动，从而改变鱼身体颜色。其他一些膜性细胞器的运动通过一个相似的途径被调控，这些包裹着特定马达蛋白的细胞器的运动被竞争性信号的复杂平衡控制着，这些信号调控马达蛋白的附着和激活。

肌球蛋白（myosin）的活性也可以通过磷酸化的方式被调控。在非肌肉细胞中，肌球蛋白Ⅱ的几个分别分布在重链和轻链的不同位点可以被磷酸化，并因此影响着马达蛋白的活性和粗丝的装配。在这样的细胞中肌球蛋白Ⅱ以两种不同的构象存在，其中伸展构象可以形成具有两极的细丝，而折叠构象尾部的结构域则与马达蛋白的头部有明显的相互作用。依赖于钙离子的肌球蛋白轻链激酶（moysin light-chain kinase，MLCK）对起调控作用的轻链的磷酸化，使得肌球蛋白Ⅱ倾向于形成伸展构象，并促进极性丝的形成并导致细胞的收缩（图 16-67）。肌球蛋白轻链的磷酸化是具有活性的 Rho 蛋白的间接目标，该蛋白质是一种前文讨论过的小 GTP 酶，其活性导致肌动蛋白细胞骨架重新组织成为收缩性的紧张纤维。MLCK

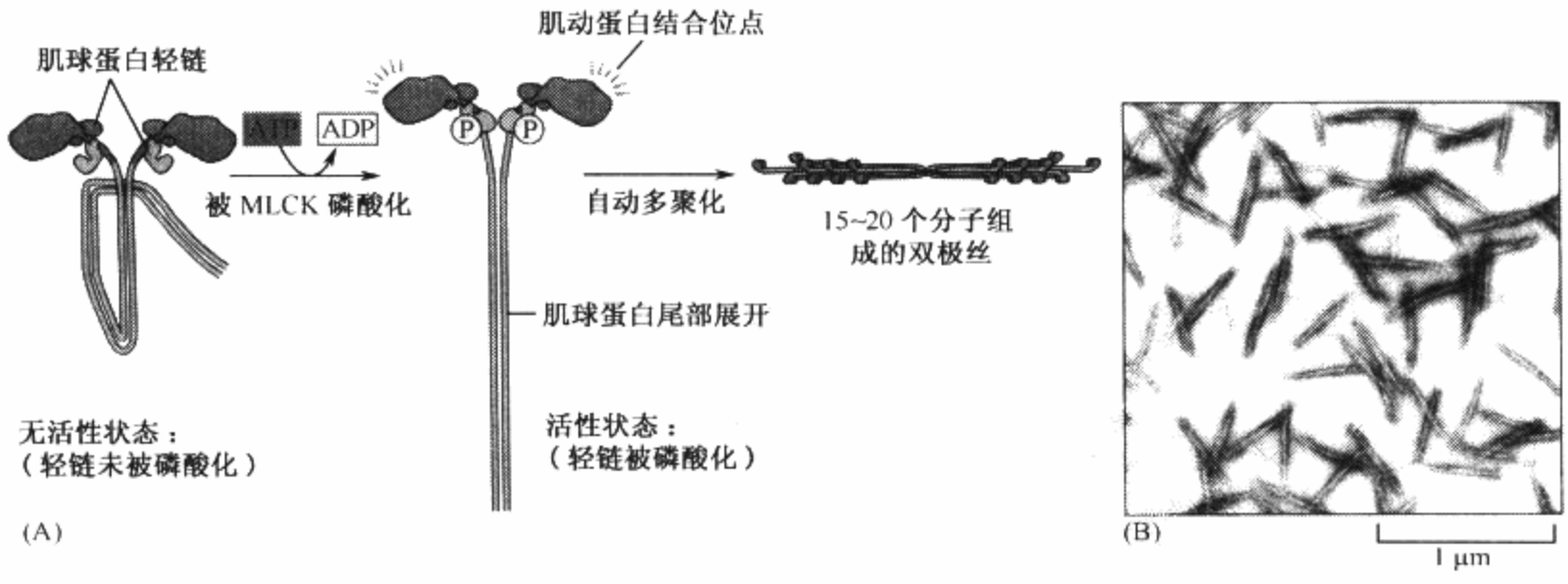


图 16-67　轻链的磷酸化和肌球蛋白Ⅱ装配成粗丝的调控

（A）在试管中，用肌球蛋白轻链激酶（MLCK）控制非肌细胞肌球蛋白Ⅱ的两个轻链之一（在这里被称为调控轻链，用浅蓝色表示），进行磷酸化至少产生两个效果，即引起肌球蛋白头部构象的改变，暴露了其肌动蛋白结合位点以及将肌球蛋白尾部从头部的“困难境地”释放，从而允许肌球蛋白分子装配成短而粗的极性丝。（B）在试管中通过使轻链磷酸化形成的肌球蛋白Ⅱ短丝的电镜负染色照片。这些肌球蛋白Ⅱ细丝比那些发现于骨骼肌细胞中的小得多（图 16-52）［（B），经 John Kendrick-Jones 许可］

还可以引发有丝分裂，导致肌球蛋白Ⅱ形成负责把有丝分裂细胞一分为二的收缩环。其他肌球蛋白超家族成员的调控至今尚不清楚，但这些肌球蛋白的调控似乎也涉及特异位点的磷酸化。

肌肉收缩依赖于肌球蛋白Ⅱ和肌动蛋白丝的滑动

肌肉收缩是所有动物运动形式中最为人们熟知和研究的最为透彻的一种形式。脊椎动物的奔跑、行走、游泳以及飞行都依赖于附着在骨骼上的骨骼肌快速而高效的收缩，而像心脏跳动和肠道蠕动这样的非自主性运动则分别依赖于心肌和平滑肌的收缩。所有这些肌肉收缩的形式都依赖于 ATP 驱动的肌动蛋白丝序列与肌球蛋白Ⅱ肌丝序列之间的相对滑动。

肌肉在进化上相对发展较晚，肌细胞在适应迅速而高效的收缩方面高度特化。细长的肌纤维实际上是由多个细胞融合发展而来的巨大单个细胞，有关这些将在第 22 章讨论。肌纤维子细胞多个细胞核被保留在融合后的大细胞中，位于紧挨着质膜的内侧，但内部的细胞质实质由肌原纤维（myofiril）构成，这一名称表示它是肌细胞的基本收缩单位（图 16-68）。**肌原纤维**为圆柱体结构，直径 1～2μm，而长度经常与肌肉细胞本身相当。它由小收缩单元重复排列组成的长链构成，这些小单元称为肌小节（sacromere），每个大约长 2.2μm，它们赋予了脊椎动物肌原纤维笔直的外形（图 16-69）。

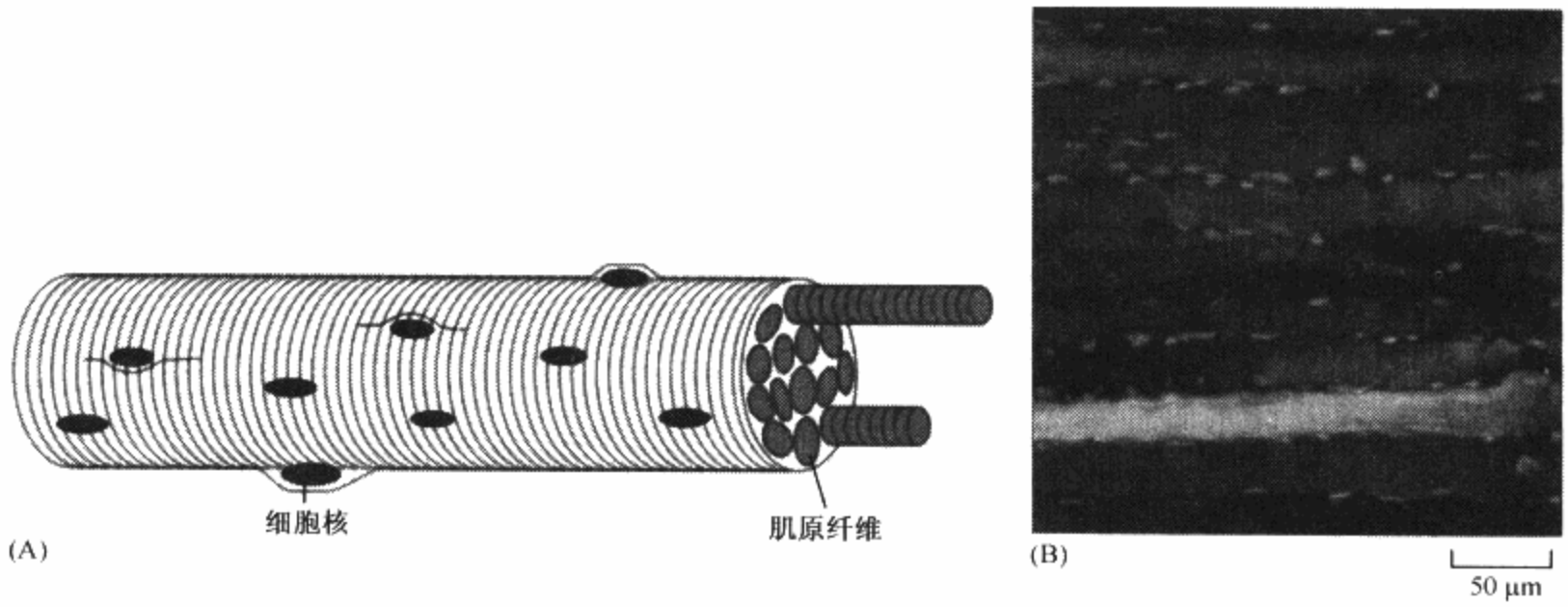


图 16-68　骨骼肌细胞（又称骨骼肌纤维）

（A）这些巨大的多核细胞由多个称为成肌细胞（myoblast）的肌细胞前体融合形成。在一个成年人中，典型的单个肌细胞直径为 50μm，并可长达若干厘米长。（B）鼠肌细胞的荧光显微照片，显示细胞核（蓝色）位于这些巨大细胞的外围［（B），经 Nancy L. Kedersha 许可］

每个肌小节由一个粗、细肌丝平行并部分重叠精确排列的微小结构组成。细肌丝（thin filament）由肌动蛋白和结合蛋白构成，这些肌动蛋白的正极附着在每个肌小节端部的 Z 盘（Z disc）。帽状的肌动蛋白负极向肌小节的中部伸展，在那里它们与粗肌丝（thick filament）重叠，这些粗肌丝是由特异的肌肉肌球蛋白Ⅱ异构蛋白形成的极性聚合体（图 16-52）。当在电镜下观察这一重叠区域的横截面时，可以见到肌球蛋白丝规则排列成六边形格子，其间均匀分布着肌动蛋白丝（图 16-70）。心肌和平滑肌同样包含肌小节，尽管其组织不像骨骼肌那样规则。

肌小节缩短由肌球蛋白丝与肌动蛋白丝相对滑动引起，其间不伴随任何一种肌丝长度的改变（图 16-71）。在 20 个独立的，可与细肌丝相互作用的肌球蛋白头部的驱动下，极性的肌

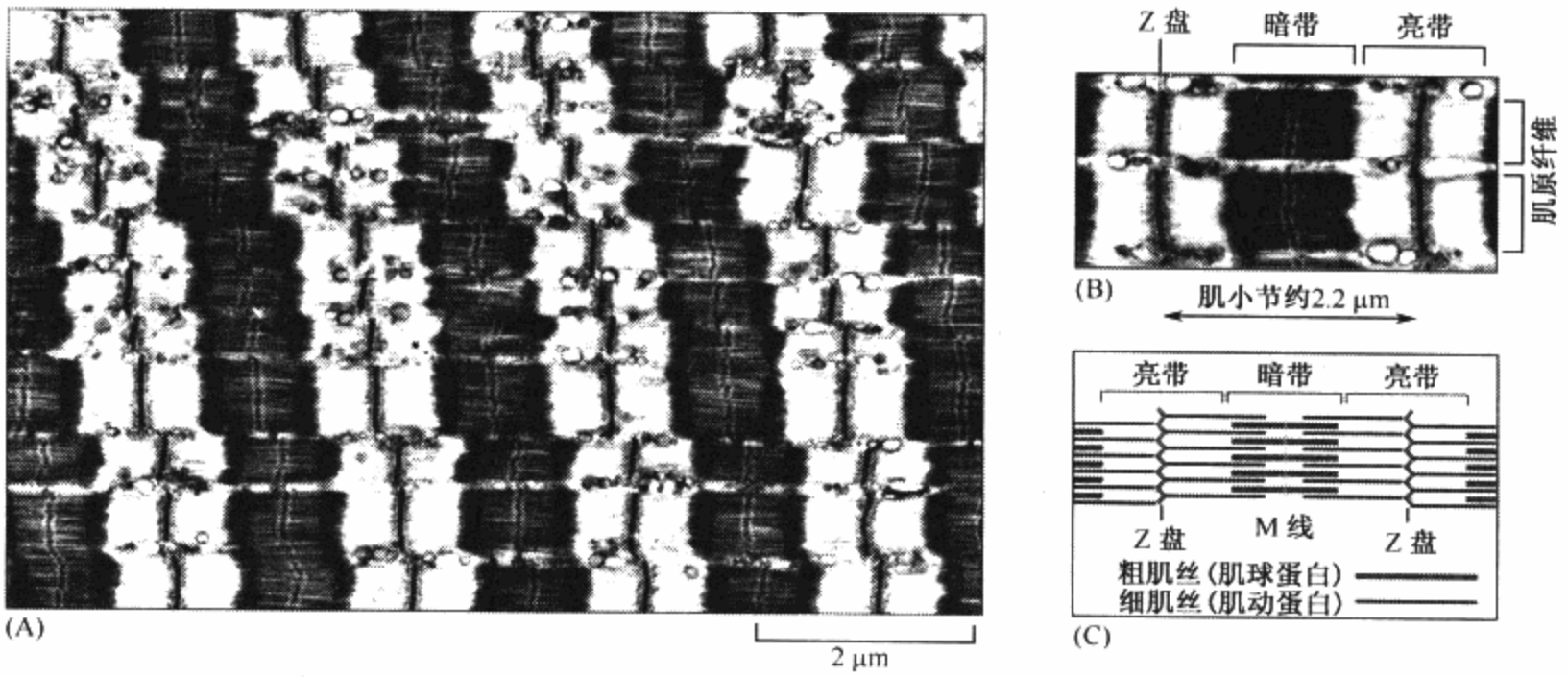


图 16-69　骨骼肌肌原纤维

(A) 兔骨骼肌细胞长截面低放大率电镜照片，显示规则的横斑状花纹。此细胞含有多条平行排列的肌原纤维(图 16-68)。(B) (A) 图中所示的骨骼及细胞的细节，显示两个相邻的肌原纤维的位置和肌小节的界限。(C) 单个肌小节的示意图，显示电镜下亮带和暗带的成因。Z 盘处于每个肌小节的端部，是肌动蛋白丝（细肌丝）的正极附着位点；M 线，或称中线，是连接相邻的肌球蛋白Ⅱ丝（粗肌丝）的蛋白质所在位置。暗带标志着粗肌丝的位置，有些时候叫做 A 带，因为它们在偏振光下表现出各项异性（即折射率随偏振面的改变而改变）。亮带只包含细肌丝所以蛋白质密度相对较低，在偏振光下表现相对的等相性，有些时候被称为 I 带［(A) 和 (B) 经 Roger Craig. 允许］

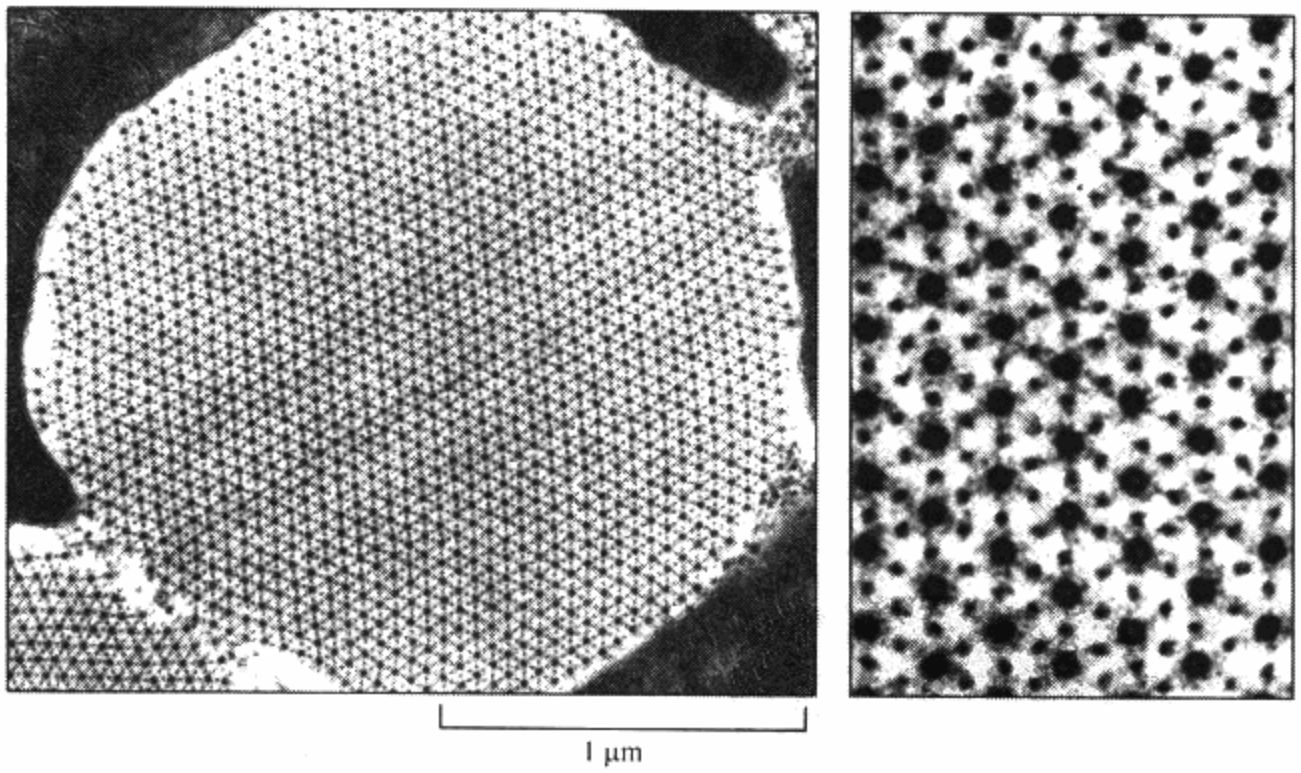


图 16-70　昆虫飞行肌的横截面电镜照片

肌球蛋白丝和肌动蛋白丝晶体般规律地排列在一起。与在脊椎动物中不同，这些肌球蛋白丝是空心的，如右边放大图所示。这些六边形的格状几何图形与脊椎动物肌肉略有不同［摘自 J. Auber, *J. de Microsc.* 8: 197～232, 1969］

球蛋白丝向两组相反排列的肌动蛋白丝的正极移动。肌球蛋白头部在移动中没有协同作用，所以为了防止互相阻碍，它们必须在一个低伸展度（processivity）的过程中，保持紧密结合肌动蛋白丝，并且在每个 ATP 酶循环中伴随着尽量少的摩擦。每个肌球蛋白粗肌丝有大约

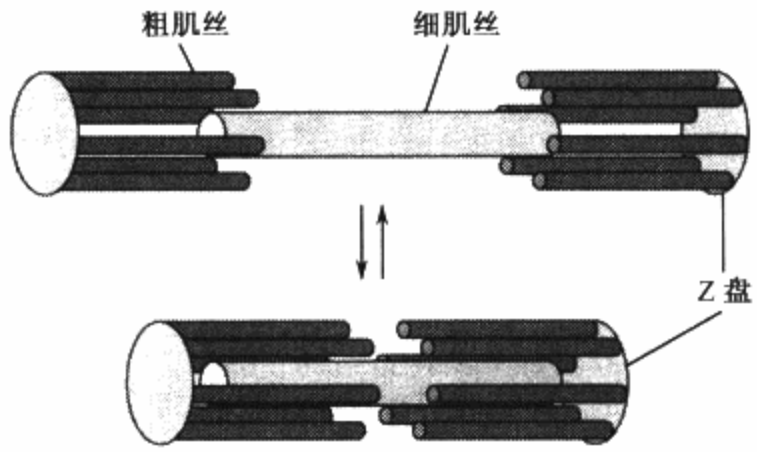


图 16-71　骨骼肌收缩的滑动模型

肌小节中的肌动蛋白丝（红）和肌球蛋白丝（绿）相对滑动，长度不变

300 个头部结构（在青蛙肌肉中为 294 个），并且每个头部在迅速收缩过程中每秒循环运动 5 次，即肌动蛋白丝和肌球蛋白丝以每秒大约 15μm 的频率相对滑动使得肌小节在 1/50s 内能够缩短 10%的长度。在每个肌原纤维中数千个相邻排列的肌小节的同时迅速的缩短给予骨骼肌迅速收缩的能力，从而完成奔跑、飞翔甚至弹奏钢琴的动作。

辅助蛋白支配着肌丝的组织、长度和在肌小节中排列等方面的高度一致性（图 16-72）。如前文所述，肌动蛋白的正极锚定在由 Z 帽蛋白（cap Z）和 α-辅肌动蛋白构成的 Z 盘；Z 盘封闭肌丝（避免分解），同时固定住它们使之形成规则的肌丝束。每条肌丝的精确长度决定于一种大体积的，称作伴肌动蛋白（nubulin）的模板蛋白，这种蛋白质几乎完全由重复的 35 个氨基酸的肌动蛋白结合序列组成。伴肌动蛋白从 Z 盘向每条细肌丝的负极伸展从而像一把“分子标尺”一样标示着肌丝的长度。细肌丝的负极被原肌球调节蛋白（tropomodulin）封闭并固定。这样，肌小节的肌动蛋白丝得以牢固的固定，而表现出与在肌动蛋白丝在其他类型细胞中不同的动力学特性。

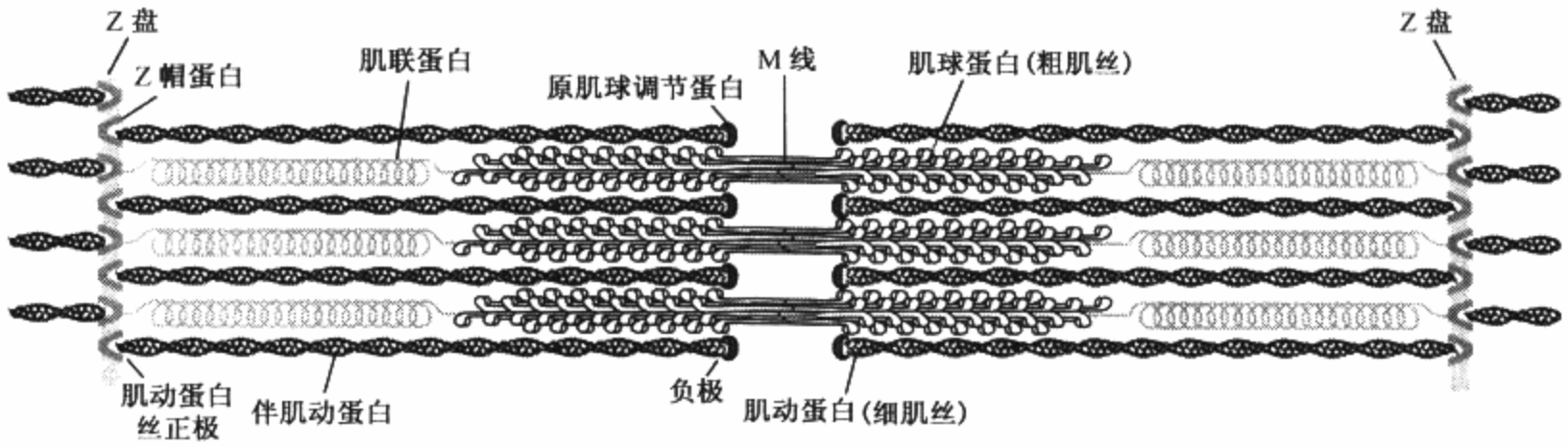


图 16-72　肌小节中辅助蛋白的组织

每个巨大的肌联蛋白分子从 Z 盘延伸至 M 线——长度大于 1μm。每个肌联蛋白分子的一部分紧密连接着一个肌球蛋白粗丝（在 M 线肌丝的极性改变）；其余部分的肌联蛋白分子具有弹性并可以在肌小节伸长和收缩时改变长度。每个伴肌动蛋白分子长度精确等于细肌丝。肌动蛋白丝同样包被着原肌球蛋白（trop 肌球蛋白）和肌钙蛋白（troponin）（没有标出；图 16-74），并且两端被封闭。原肌球调节蛋白封闭肌动蛋白的负极，而 Z 帽蛋白将正极锚定在包含 α-辅肌动蛋白的 Z 盘

粗肌丝被成对的一种更长的模板蛋白夹在两个 Z 盘中间，这种蛋白质被称为肌联蛋白（titin）。肌联蛋白像一个分子弹簧，由一长串类似免疫球蛋白的结构域组成，可以在蛋白质受到压力的情况下依次展开。这些结构域类似弹簧的伸展与压缩保证了粗肌丝平衡在肌小节的中央，并且允许及纤维在过度拉伸后得以恢复原长。在秀丽新小杆线虫（*C. elegans*）中，肌小节的长度要长于脊椎动物，肌联蛋白同样更长，这暗示着肌联蛋白可能同样能够作为分子标尺，决定每个肌小节的总长度（图 3-34）。

肌肉收缩由胞质内 Ca^{2+} 浓度的突然升高引起

产生动力的肌丝间相互作用只有在运动神经发出的信号传至骨骼肌才能发生。从神经传

来的信号触发横跨肌肉细胞膜的动作电位（讨论见第 11 章），这一电冲动迅速扩散至一系列膜褶皱，即 T 小管（T tubule），一种由包围在每个肌原纤维的质膜内陷形成的横向小管。信号随即跨越一个小缝隙到达肌质网（sarcoplasmic reticulum），一种相邻的由内质网特化形成的网状外鞘，这一结构像网袜一般包绕着每个肌小节［图 16-73（A），（B）］。

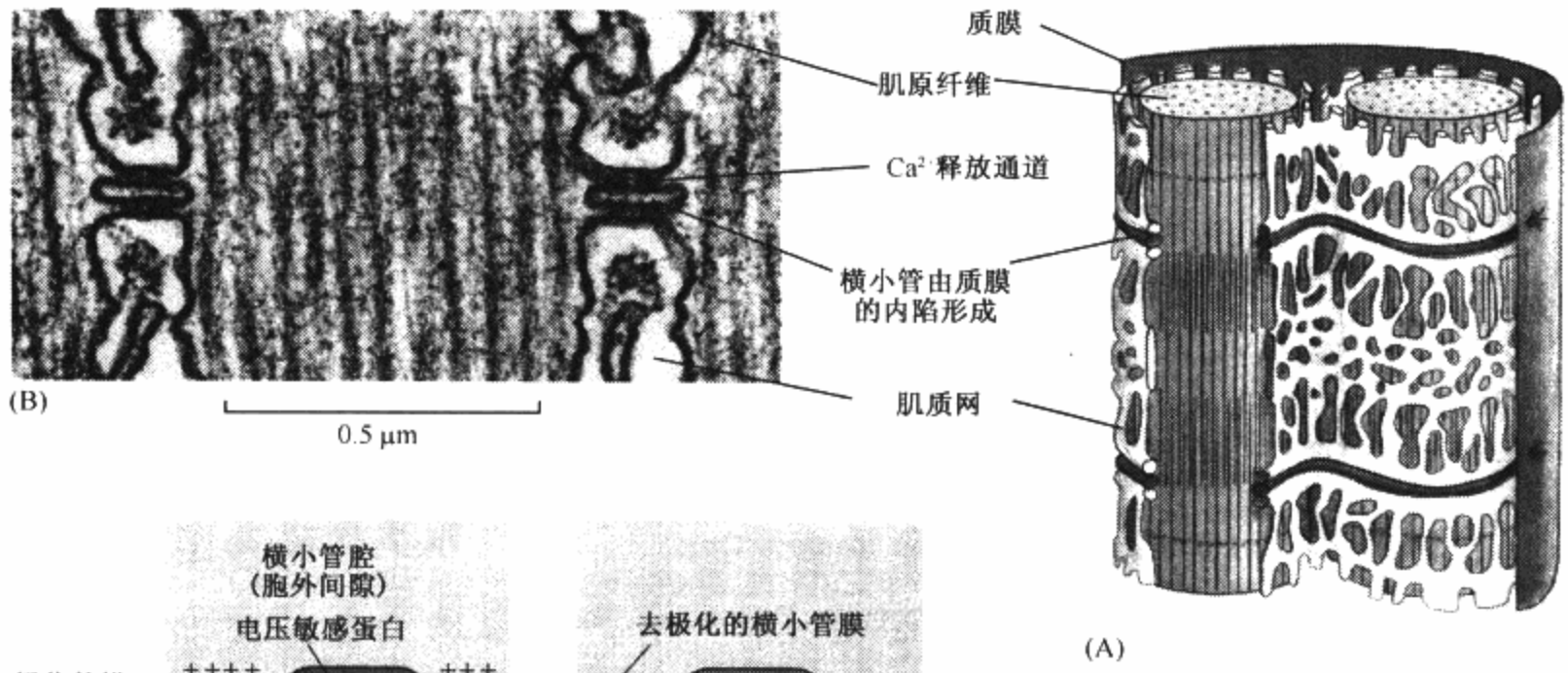


图 16-73　T 小管和肌质网

（A）双膜系统的草图，这些系统在从肌肉细胞质膜到细胞中所有的肌原纤维中传递信号。（B）电子显微照片显示 2 个 T 小管。标注了大 Ca^{2+} 释放通道在肌质网膜上的位置。（C）示意图显示一个在肌质网膜上的 Ca^{2+} 释放通道是如何被认为经由邻近 T 小管膜里的电压敏感穿膜蛋白的作用下打开的。［（B），经 Clara Franzin-Armstrong 许可］

当 T 小管膜中的电压感应蛋白被动作电位激活时，这些蛋白质继而触发肌质网中的 Ca^{2+} 释放通道［图 16-73（C）］。Ca^{2+} 涌入细胞质，随即引发各个肌原纤维的收缩。由于信号从肌细胞质膜（从 T 小管和肌质网）传到细胞内的肌小节只需要不到千分之一秒，所有细胞内的肌原纤维同时收缩。Ca^{2+} 浓度的上升是瞬时的，因为 Ca^{2+} 将被一种在其膜上含量很高的，依赖于 ATP 的钙离子泵（也称 Ca^{2+}-ATP 酶，Ca^{2+}-ATPase）迅速泵回肌质网内（图 3-77）。在典型情况下，胞质 Ca^{2+} 浓度在 30ms 内恢复到静止水平，使肌原纤维放松。由此可见，肌肉收缩依靠两个大量消耗 ATP 的过程：由肌球蛋白上 ATP 酶动力结构域驱动的肌丝相对滑动和由钙泵驱动的 Ca^{2+} 泵运。

Ca^{2+} 对于脊椎动物肌肉的收缩是必需的，并且因此这一过程对通过神经系统传递的运动指令的依赖完全依靠于一套与肌动蛋白细肌丝紧密结合的特殊的辅助蛋白。其中一种辅助蛋白是肌细胞形式的原肌球蛋白（tropo myosin），它是一种沿肌动蛋白螺旋沟结合的长形分子。另一种是肌钙蛋白（troponin），这是一种三条肽链形成的复合体，可分为肌钙蛋白 T、I 和 C（命名的意义分别为：原肌球蛋白结合、抑制和钙离子结合）。肌钙蛋白 I 结合肌动蛋白

和肌钙蛋白 T。在放松的肌肉中，肌钙蛋白 I-T 复合体将原肌球蛋白推出其正常结合的凹沟，并使之挪动到妨碍肌球蛋白头部结合的肌动蛋白丝沿线位置，以此阻止产生动力的相互作用。当 Ca^{2+} 浓度升高，最多结合 4 个 Ca^{2+} 的肌钙蛋白 C 使肌钙蛋白 I 释放对肌动蛋白的束缚。这使原肌球蛋白分子滑回其正常位置，进而肌球蛋白的头部得以沿肌动蛋白丝移动（图 16-74）。肌钙蛋白 C 与结合单个钙离子的蛋白钙调素（calmodulin）（图 15-40）关系甚近；可以将其想像成钙调素的一种带有肌钙蛋白 I 和肌钙蛋白 T 结合位点的特殊形式，从而保证肌原纤维能够对极快速的钙离子浓度升高做出应答。

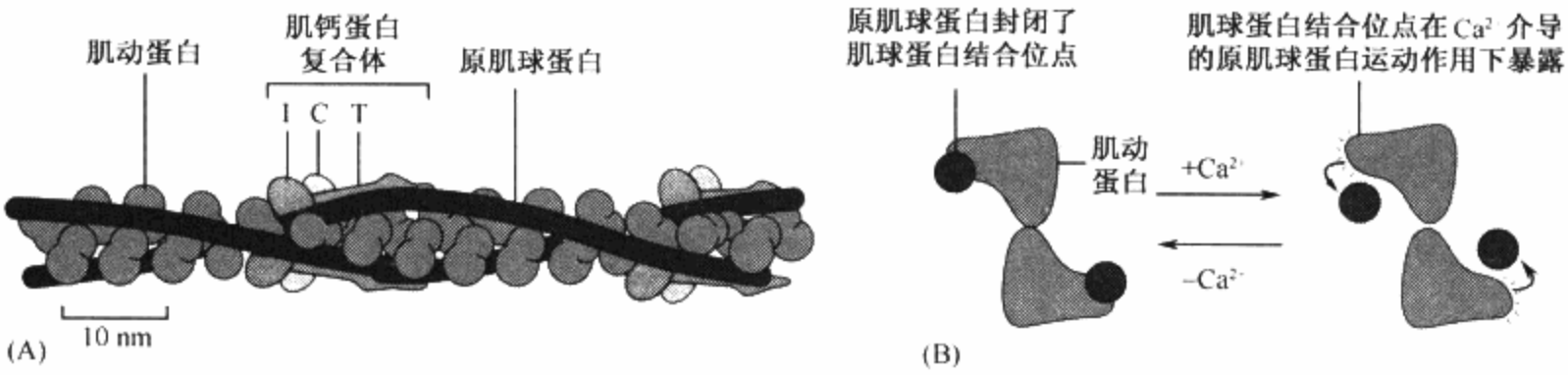


图 16-74　肌钙蛋白对骨骼肌收缩的控制

（A）一条骨骼肌细胞的肌动蛋白丝，显示原肌球蛋白和肌钙蛋白沿肌动蛋白丝的所在位置。每个原肌球蛋白分子有 7 个均匀分布的相似氨基酸序列，每个序列被认为结合肌动蛋白丝上一个单独的肌动蛋白亚基。（B）从端点方向显示一条肌动蛋白丝，显示了设想中 Ca^{2+}（结合于肌钙蛋白）如何释放了原肌球蛋白对肌动蛋白和肌球蛋白头部相互作用的阻碍［（A），摘自 G. N. Phillips, J. P. Fillers and C. Cohen, *J. Mol. Biol.* 192: 111～131, 1986. © Academic Press］

心肌是设计精确的机器

心肌是身体中工作最为繁重的肌肉，在人的一生中收缩达 3 亿次（3×10^9）。这个数字大约相当于一台汽车内燃引擎寿命内转动的次数。在心脏细胞中，一些心肌肌球蛋白和心肌肌动蛋白的特殊异构体得以表达。甚至心脏中收缩蛋白的非常微妙的改变都会引起严重的心脏疾病——这些改变不会在其他任何组织中引起可察觉的后果（图 16-75）。

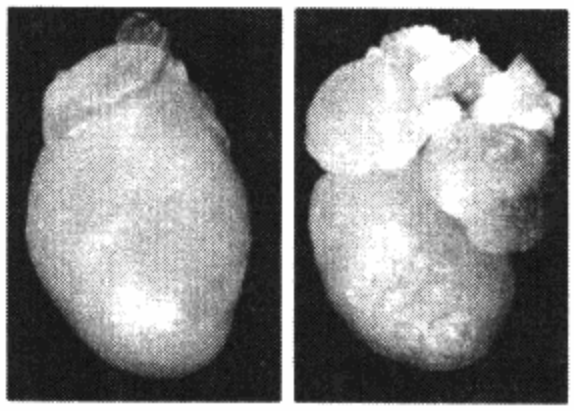


图 16-75　心脏肌球蛋白的一个细微突变造成的后果

左边是 6 天大老鼠幼仔的正常心脏，右边来自于一个突变体幼仔，具体为两拷贝的心脏肌球蛋白基因同时单点突变，即 Arg403 变为 Gln。两个心房都严重增大（增生），并且这只老鼠在出生后数周后死亡（摘自 D. Fatkin et al., *J. Clin. Invest.* 103: 147, 1999）

家族性肥厚增生心肌病变症（familial hypertrophic cardiomyopathy）是一种在年轻运动员中常见的致死疾病。这是一种遗传疾病，在 1000 人中大约有 2 例，与心脏增大、冠状血管不正常狭小以及心律失调等症状有紧密联系。在编码心脏 β 肌球蛋白重链的基因序列上超过 40 个微小的位点突变都会引起动力结构域或者临近区域的改变，另外在编码其他收缩蛋白（包括肌球蛋白轻链、心脏肌钙蛋白以及原肌球蛋白）的基因上大约有 20 个位点可以引起这种状况。在心肌肌动蛋白基因中更微小的错义突变可以引起其他类型的心脏病变，叫做扩张型心肌病（dilated cardiomyopathy），该病同样经常引起早期心脏衰竭。正常的心脏收缩看起来像是一台如此高度和谐运转的机器，任何地方一点微小的失常都足以在年复一年的重复运动中对其逐渐损耗。

纤毛和鞭毛是由微管和胞质动力蛋白构成的动力结构

正如肌纤维是肌动蛋白丝和肌球蛋白丝构成的高度特化且高效的动力机器，纤毛和鞭毛是由微管和胞质动力蛋白组成的高度特化且高效的动力结构。纤毛和鞭毛都是发丝状的细胞附属物，在其核心具有微管束。**鞭毛**（flagella）发现于精子和很多原生动物。通过鞭毛的波状摆动，它们可以使其附着的细胞在液体介质中游动［图 16-76（A）］。**纤毛**（cilia）通常比鞭毛短并且具有和鞭毛相似的结构，但它们的运动成鞭打状，类似于游泳运动中的蛙泳［图 16-76（B）］。相邻的纤毛运动起来几乎但不完全同步，制造出波浪状图案，这种图案可在纤毛打动的区域用显微镜观察到。纤毛的打动不仅可以推动单细胞通过流质（如原生动物草履虫的泳动），而且可以在某些组织中使流质流过长有纤毛的表面。在人体中，数量巨大的纤毛（$10^9/cm^2$或更多）排列在我们的呼吸道，扫动着层层的黏液，捕捉灰尘颗粒和细菌，使之返回口腔，最终被清除。类似地，输卵管中的纤毛将卵扫动进入子宫。

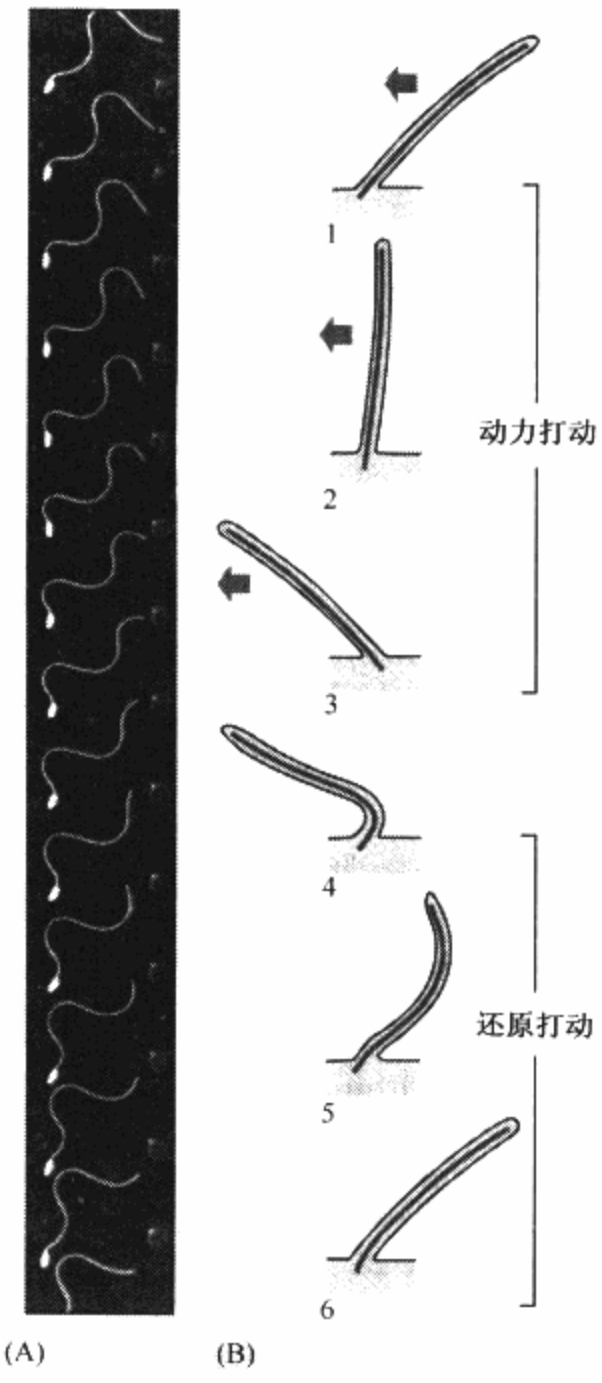


图 16-76　鞭毛和纤毛运动方式的比较

（A）海鞘精子细胞的波状运动。细胞在用频闪观测仪在每秒 400 次曝光的情况下拍照。注意等振幅的波从鞭毛的基部到尖端传播。（B）纤毛的打动，类似游泳运动中的蛙泳。在流质被驱动经过细胞表面时，一起迅速而有力的划动（红色箭头）紧跟着一次缓慢的回复性划动。典型的一次循环需要0.1～0.2s，产生一个垂直于轴丝中轴的力

［（A）经 C. J. Brokaw 许可］

纤毛和鞭毛的运动由其核心的弯曲产生，这个核心被称为**轴丝**（axoneme）。轴丝由微管和其附着蛋白构成，排列成与众不同而规律的图案。9 个特殊的成对微管（一个完整的微管和一个部分残缺的微管融合而成，故这两个微管享有部分共有的微管壁）被环状排列在一对微管的周围（图 16-77）。这种特征性的排列方式可以在从原生动物到人体内的几乎所有形式的真核鞭毛和纤毛中找到。微管连续延伸需要达到轴丝的长度，即 10～200μm。在微管长度的沿线，规律分布的辅助蛋白将微管横向连接在一起。纤毛胞质动力蛋白（ciliary dynein）分子在相邻的微管对间形成桥，包绕着轴丝的周围（图 16-78）。当胞质动力蛋白的动力结构域被激活时，附着在一个微管对上的胞质动力蛋白分子试图沿着相邻的微管对行走，这一趋势迫使相邻的微管对相对滑动，与肌动蛋白细丝在肌肉收缩中的滑动颇为相似。尽管如此，微管对中其他连接的存在会阻碍这种滑动，于是胞质动力蛋白的动力转化为弯曲运动（图 16-79）。

细菌也利用细胞表面的叫做鞭毛的结构运动，但这些鞭毛不包含微管和胞质动力蛋白并且不能波动或拍打。取而代之的是，细菌鞭毛（bacterial flagella）是长而刚性的螺旋状细丝，由鞭毛蛋白（flagellin）的重复亚基构成。鞭毛如螺旋桨般转

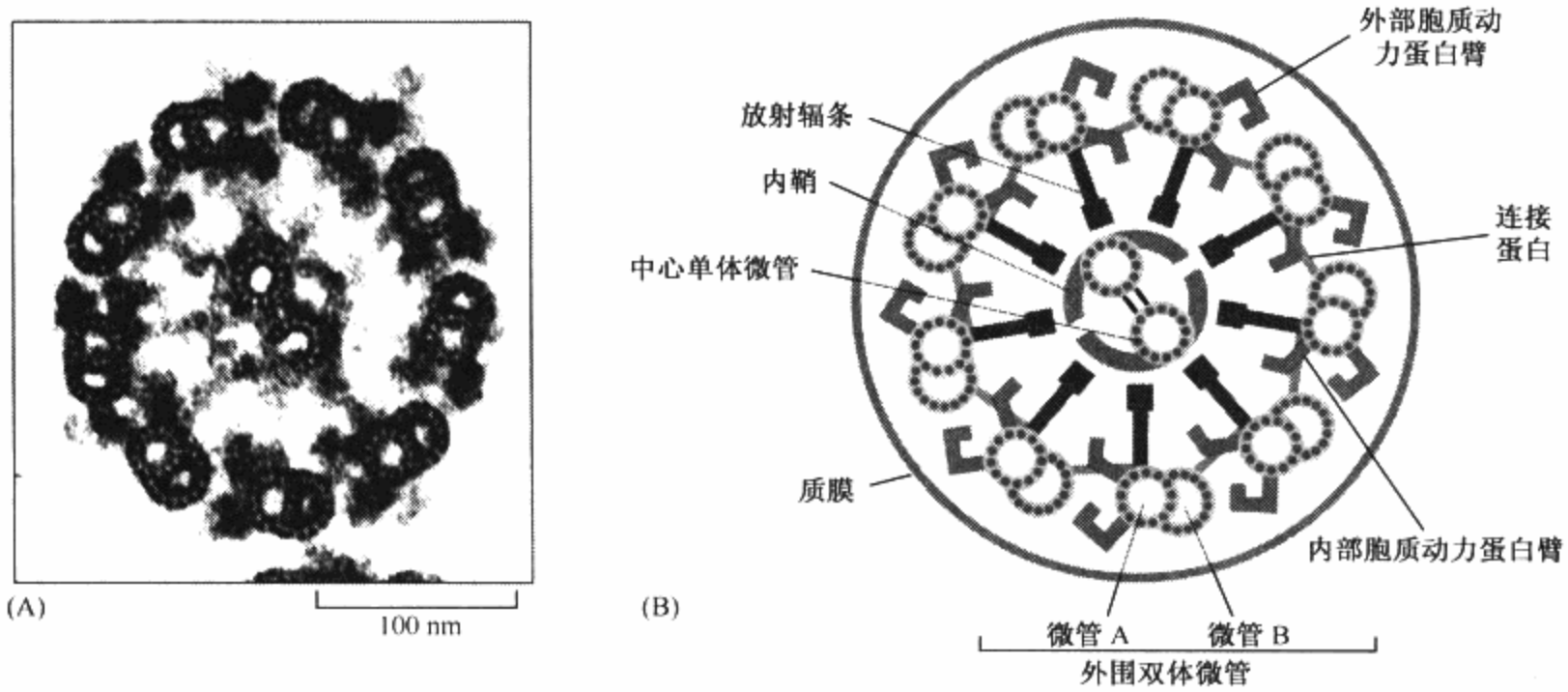


图 16-77　微管在一根纤毛或者一根鞭毛中的排列

（A）一种绿藻（衣藻）鞭毛横截面的电镜照片，显示了微管的“9+2”结构。（B）部分纤毛或鞭毛的示意图。几种从微管伸出的突出将微管连接在一起，并且沿轴丝的长度规律地间隔发生［（A），经 Lewis Tilney 许可］

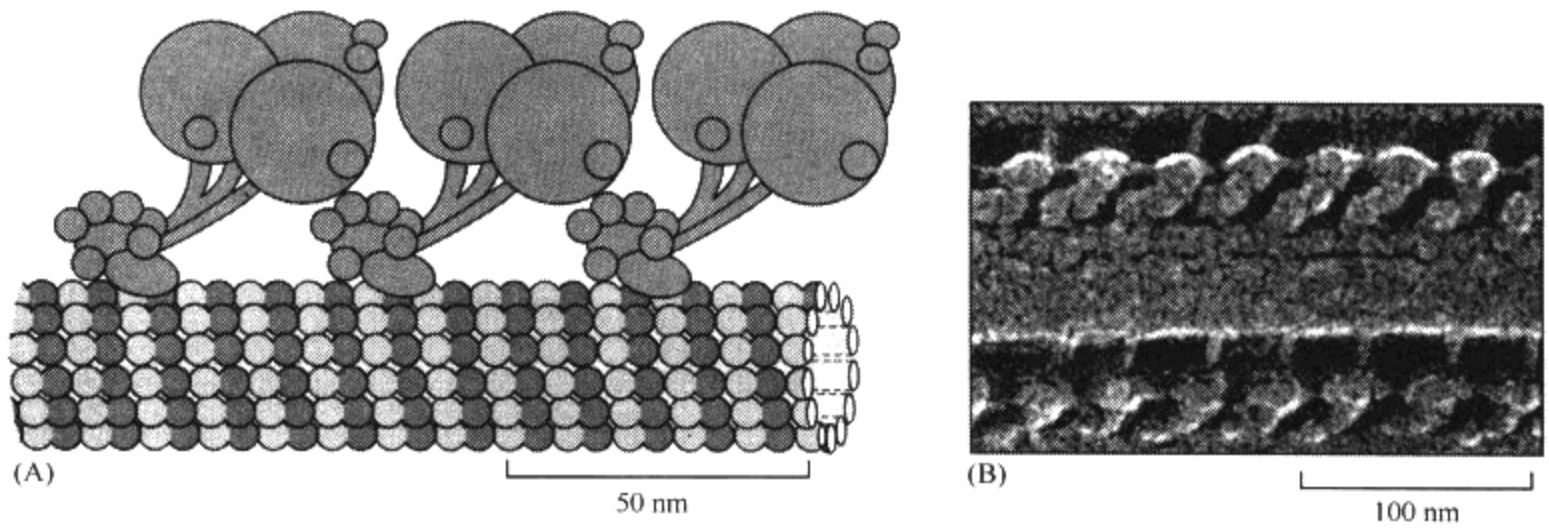


图 16-78　纤毛胞质动力蛋白纤毛（轴丝）胞质动力蛋白是一种巨大的蛋白质复合体（分子质量近 2×10^6 Da）由9～12条肽链组成，其中最大的一条重链达 500 000 Da

（A）这些重链被认为形成球状头部和茎状结构的主要部分，同时许多小链簇拥在茎状结构的基部（单个分子见图 16-56）。分子的基部通过一个非 ATP 水解途径紧密连接在微管 A，同时巨大的球状头部具有 ATP 水解依赖的微管 B 结合位点（图 16-77）。当这些头部水解结合其上的 ATP，它们会向微管 B 的负极运动，由此产生一个纤毛或鞭毛的相邻微管对间的滑动力。由三条重链组成的纤毛胞质动力蛋白的三头状结构在此被标出。（B）一根纤毛的冷冻刻蚀电镜照片显示胞质动力蛋白的臂从微管对中规律间隔地向外伸展；只有微管 A 被显示［（B），经 John Heuser 许可］

动，由一个特殊的镶嵌在细菌细胞壁中的转动马达驱动（图 15-67）。用同样的名称称呼这两种显著不同的两类泳动装置是一个不幸的历史错误。

称为基体（basal body）的结构使真核的纤毛和鞭毛根植在细胞表面。基体与被发现镶嵌在动物细胞中心体中的中心粒具有相同的结构，即 9 个融合的微管三体环绕成车轮状（图 16-80）。的确，在一些生物体中，基体和中心粒在功能上可以互换。例如，在单细胞藻类衣藻（chlamydomonas）的每个有丝分裂过程中，鞭毛被吸收，基体移动进入细胞内部成为部分纺锤体。新的基粒和基体由一种古怪的复制过程产生，在这一过程中一个较小的子代

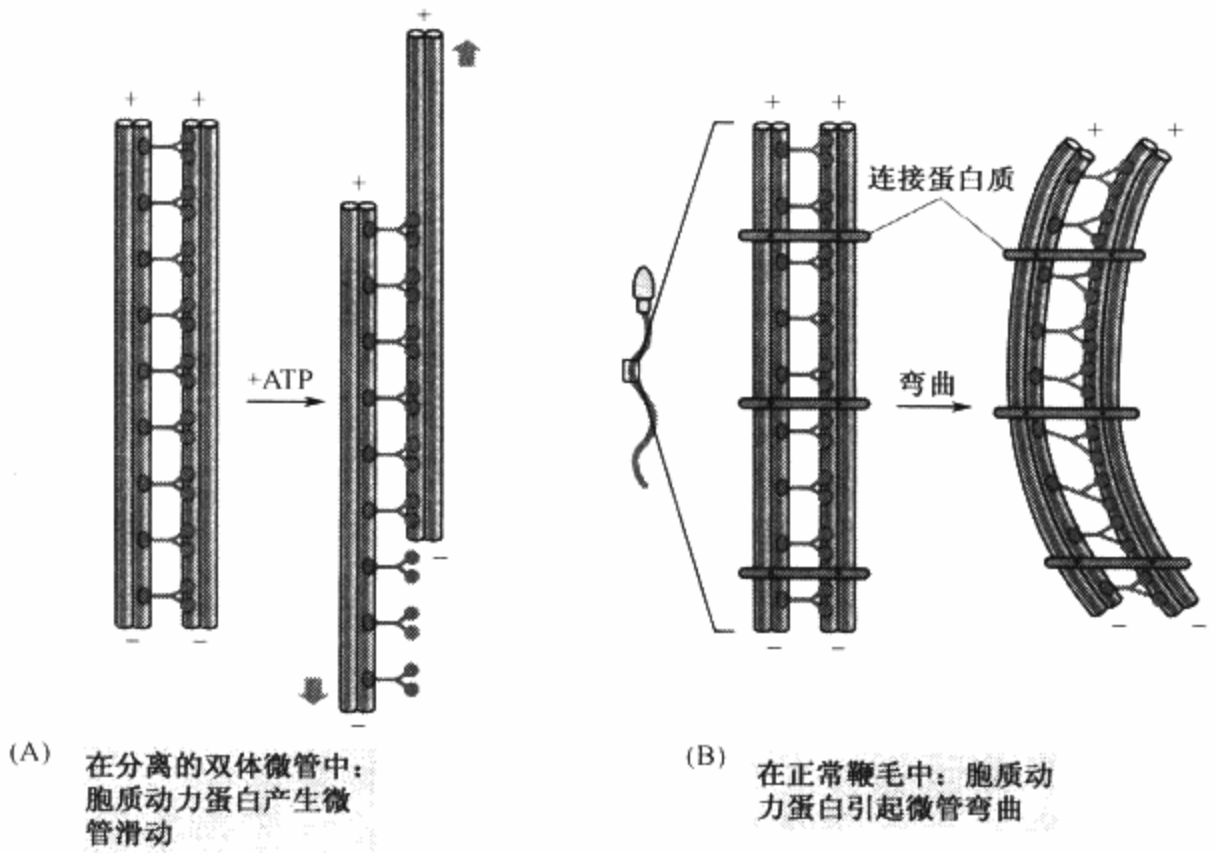


图 16-79　轴丝的弯曲

（A）当轴丝暴露在胰蛋白酶中，将相邻微管对固定在一起的连接被破坏。在这种情况下，ATP 的加入允许胞质动力蛋白头部的驱动动作使一对微管与另一对相对滑动。（B）在完整的轴丝（如一个精子内的）中，微管对的相对滑动被具有弹性的蛋白质连接阻止。因此驱动动作引起一个弯曲动作，产生波动或者打动运动，如图 16-76 中所见

在一种至今不明的机制的作用下垂直于母代结构形成（图 18-6）。

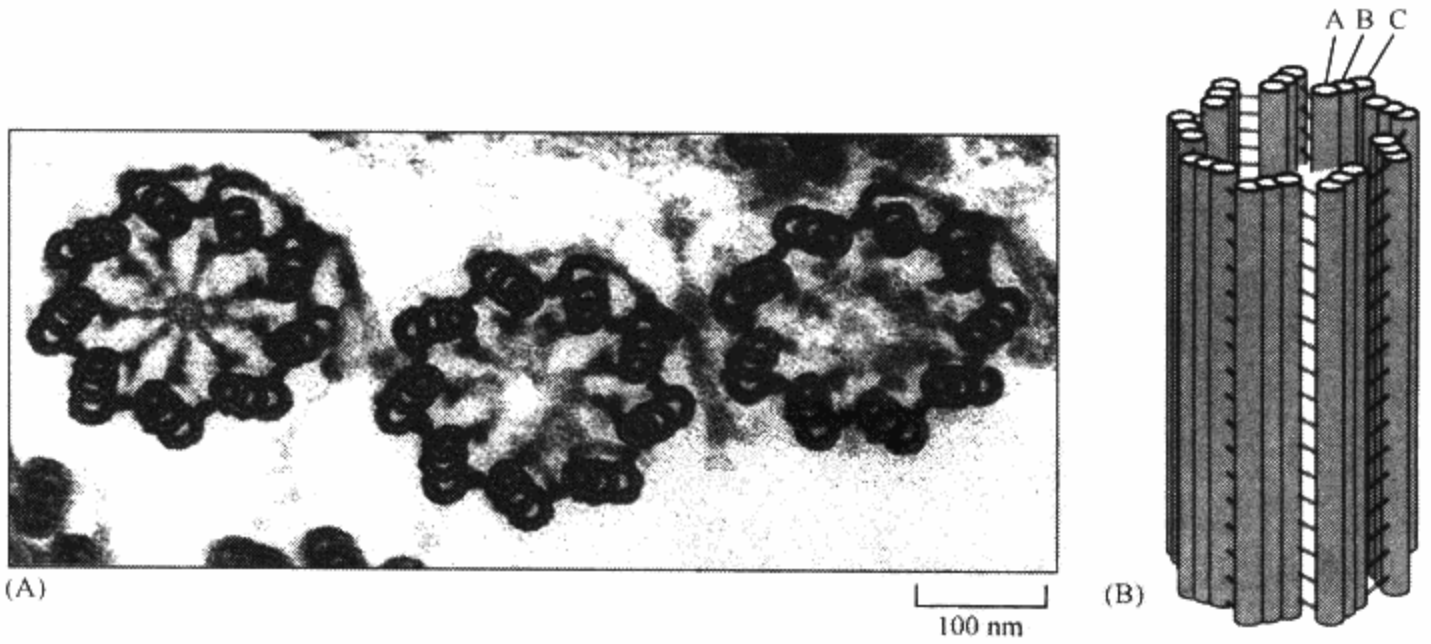


图 16-80　基体

（A）原生动物皮层中的 3 个基体的横截面。（B）单个基体的侧面图。每个基体形成一个纤毛轴丝的下部，并且由 9 组微管三体构成，每个三体由一根完整的微管（微管 A）与两个不完整微管（微管 B 和微管 C）融合构成。其他蛋白质［在（B）中用红色表示］形成连接，将微管的柱状序列固定在一起。中心粒中微管的排列与之本质上相同（图 16-24）［（A），经 D. T. Woodrow 和 R. W. Linck 许可］

在人类中，纤毛胞质动力蛋白的遗传缺陷导致纤毛不动综合征（kartagener's syno-

drome)。这种综合征特征为精子不能泳动引起的男性不育、由于呼吸道上的平行纤毛无法清除碎屑和细菌引起的肺部易感染性，以及早期胚胎发育中左右轴分化的缺陷（讨论见第 21 章）。

小结

动力蛋白使用 ATP 水解产生的能量沿着微管或者肌动蛋白丝移动。它们介导了肌丝的相对滑动和膜性细胞器沿蛋白丝轨道的运输。所有已知的沿肌动蛋白丝运动的动力蛋白都是肌球蛋白超家族的成员。沿微管运动的动力蛋白是驱动蛋白超家族或者胞质动力蛋白家族的成员。肌球蛋白和驱动蛋白超家族是多变化的，分别在人体内由大约 40 个基因编码。唯一所有动力蛋白超家族共同具有的元件为马达“头”区域。这些头部可以附着多种“尾”，这些尾连接不同的负载物并使不同的家族成员在细胞中行使不同的功能。尽管肌球蛋白和驱动蛋白沿不同的轨道移动并使用不同的机制通过水解 ATP 产生力和运动，但它们享有共同的结构核心，这暗示它们可能起源于同一祖先。

真核生物中两种特殊的动力结构包含高度顺序排列的，沿固定蛋白丝轨道移动的动力蛋白。肌小节中的肌球蛋白-肌动蛋白系统给包括骨骼肌、平滑肌和心肌在内的不同种类的肌肉收缩提供动力。轴丝中的胞质动力蛋白-微管系统则驱动着纤毛的打动和鞭毛的波动。

细胞骨架和细胞行为

细胞生物学中的一个中心挑战是理解众多各自分离的分子成分的功能是如何联合产生复杂的细胞行为的。至此在本章中，我们已经看到不同的基本细胞骨架活动机制（如肌肉收缩）是怎样被理解为少数几种分子的活动过程。在这最后一节中，我们将考察更复杂的细胞行为，并思考它们是如何由基本的细胞骨架机制构成的。

我们讨论的细胞行为全部依赖于几种成分和几个过程的协调配置，这些成分和运动过程我们在本章的前三节中已经揭示，它们包括：细胞骨架聚合物动态的聚合和解聚、聚合相关蛋白对细胞骨架聚合物的调控和结构修饰，以及马达蛋白沿聚合物的移动。这些活动如何协调决定细胞的形状，如何使之蠕动，还有如何在有丝分裂中将细胞一分为二？这些有关细胞骨架协同作用的问题继续挑战着科学家们。我们将在这里集中关注细胞的形状及位移的调控，把细胞骨架在细胞分裂中的角色留在第 18 章讨论。

在酵母中能够容易地分析细胞极化的机制

与多数动物细胞相比，一种芽殖酵母——酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*），具有简单的结构。最明显的特性就是其细胞的特征性不对称。这一不对称性起源于其肌动蛋白骨架的极向性。因为酵母的基因分析相对容易，所以可以使用基因筛来分离在产生和维持细胞极性中所涉及的多种分子。正如在一些其他领域芽殖酵母已经被证明其具有细胞生物学模式生物的用途，多数这些分子已经表现出在其他复杂细胞的类似功能中的相似性。

芽殖酵母细胞只含有很少的胞质微管（这点在真核细胞中是很特殊的），所以其极化过程在很多方面依赖于肌动蛋白。在这些细胞中存在着两种肌动蛋白丝聚合物：肌动蛋白束（actin cable，肌动蛋白丝长束）和肌动蛋白补丁（actin patche，与细胞皮层相结合的小蛋白丝聚合物），可能是细胞内吞和细胞外泌作用的标记位点。增殖中的芽殖酵母必须高度极化，以便母细胞从细胞表面的单个位点出芽。在这一过程中，肌动蛋白补丁在出芽位点高度聚集，

同时肌动蛋白束排列并指向它们。推测这一肌动蛋白组织过程可能指导了出芽位点细胞壁物质的分泌（图 16-81）。

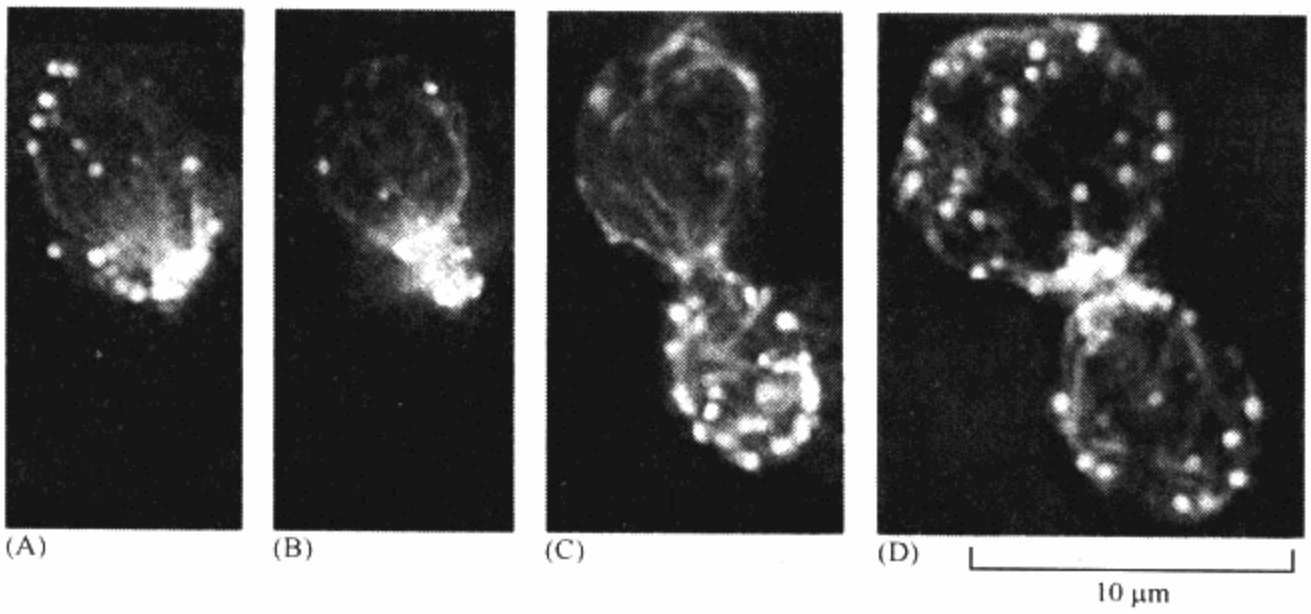


图 16-81　酵母细胞周期循环中肌动蛋白补丁和肌动蛋白束的极化

用鬼笔环肽进行荧光标记的酵母细胞中丝状的肌动蛋白结构，包括肌动蛋白补丁（圆型亮点）和肌动蛋白束（长线）。（A）形成芽之前，在母细胞中大部分肌动蛋白补丁簇拥在一端。肌动蛋白束排列起来并指向补丁聚集的区域，即将出芽的位点。（B）当小芽生长时，大部分补丁保持在芽体上。母细胞中的肌动蛋白束继续指向这一新生细胞壁形成的位点。（C）补丁基本均匀的分布在成熟芽体表面。母细胞中的肌动蛋白束保持着极性。（D）细胞分裂刚刚结束，母细胞和子细胞形成新的补丁，这些补丁聚集在分裂位点附近，而两个细胞的肌动蛋白束都已随机分布（摘自 T. S. Karpova et al., *J. Cell Biol.* 142：1501～1517，1998. © The Rockefeller University Press）

处于饥饿状态时，酵母细胞像很多其他单细胞生物一样会形成孢子。但孢子只能由二倍体的芽殖酵母细胞形成，然而芽殖酵母主要以单倍体细胞的形式繁殖。因此一个饥饿的单倍体芽殖酵母细胞必须寻找一个相反交配类型的搭档，追求它，并在形成孢子前与其交配。酵母细胞不能泳动，取而代之的是它们可以通过极化生长接近并触及它们的交配对象。芽殖酵母的单倍体形式有两种交配类型，a 和 α，分别分泌被称为 a 因子和 α 因子的交配因子。这些泌出的单个分子通过结合细胞表面受体而发挥作用，这些受体属于在第 15 章曾经提到的 G 蛋白偶联受体超家族（G -protein-linked receptor superfamily）。α 因子结合到其受体上后的一个后果就是导致受体细胞开始极化，形成一种如同漫画人物“shmoo”（美国的一个漫画人物）的形状（图 16-82）。在 α 因子的浓度梯度下，shmoo 型的 a 型细胞的尖端将指向分子浓

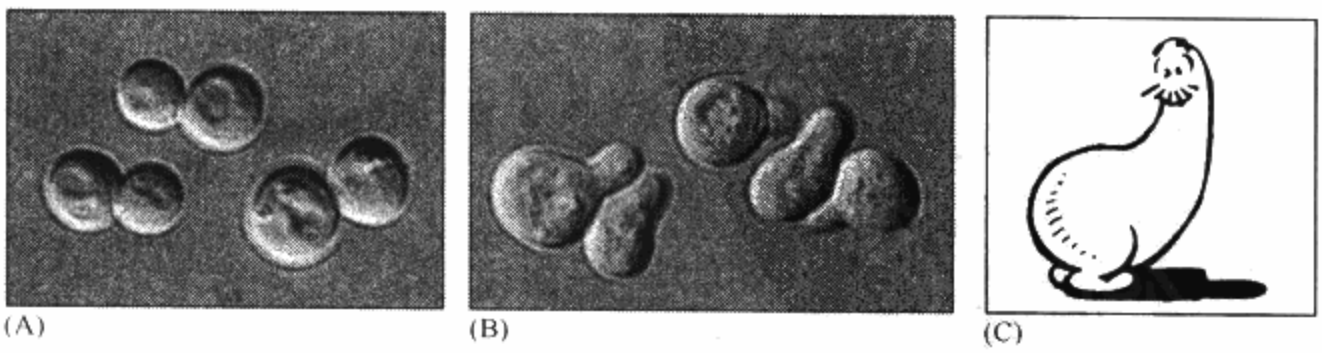


图 16-82　酵母细胞应答交配因子时的形态学极化

（A）酿酒酵母细胞通常为圆型。（B）用来自相反交配型细胞的交配因子处理引起细胞极化。极化后的细胞称为“shmoo”。（C）Al Capp 的著名卡通形象——shmoo［（A）和（B）经 Michael Snyder 许可；（C）版权为 Capp Enterprises, Inc（1948）所有］

度最高的区域生长，这些单个分子在一般环境中将引导其向“求偶”中的 α 细胞所在位置的附近生长。

这种细胞的极性生长需要肌动蛋白细胞骨架在应答交配因子信号时进行排列。此外，微管组织中心［在酵母细胞中镶嵌在核膜并被称为纺锤体极体（spindle pole body）］向最靠近细胞尖端的细胞核一端转动，这样细胞核定位在一条轴线的沿线，这条轴将指导它与其交配伙伴的核接触并融合。广泛的基因研究已经分离出多数接收和转换这一空间信号所涉及的基因。正如预料，这些基因所编码的蛋白质有很多在肌动蛋白丝和微管重排中扮演角色(图 16-83)。

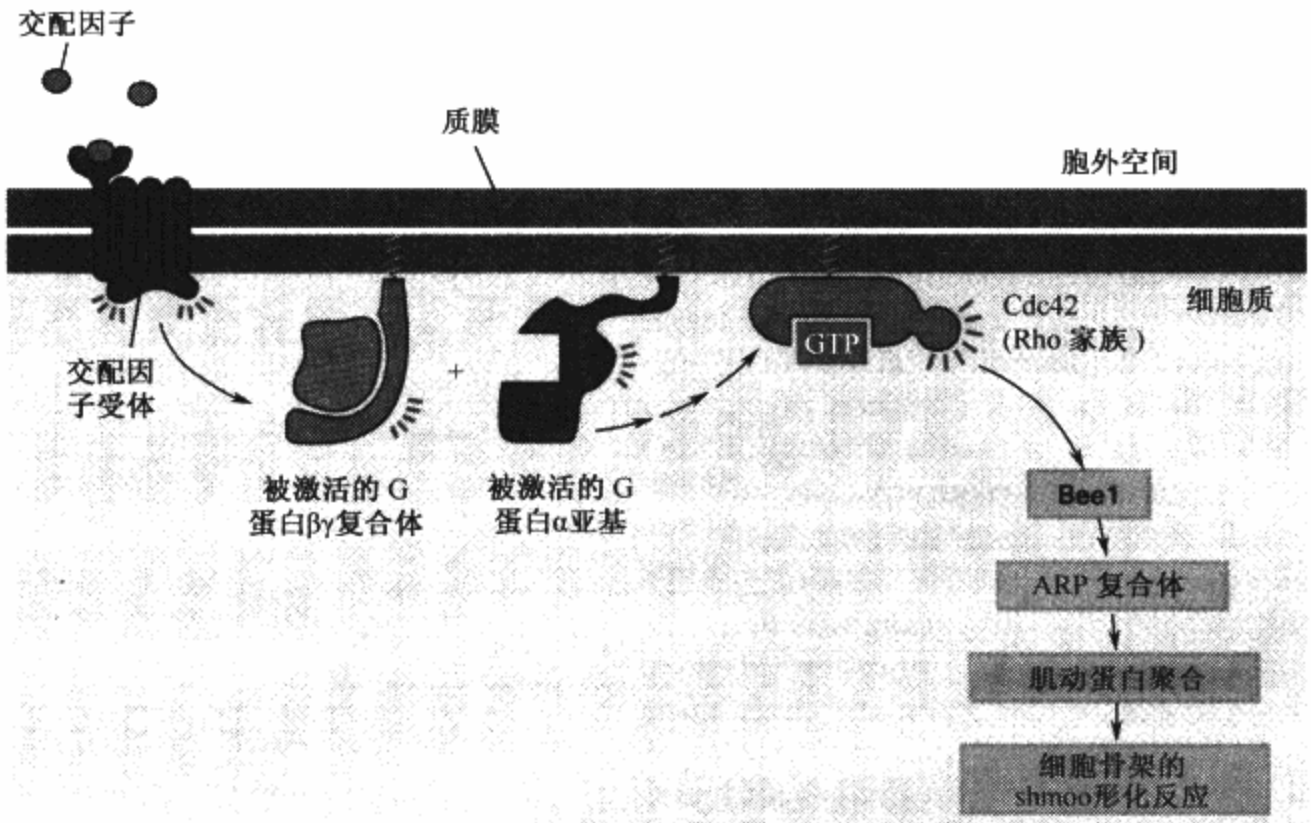


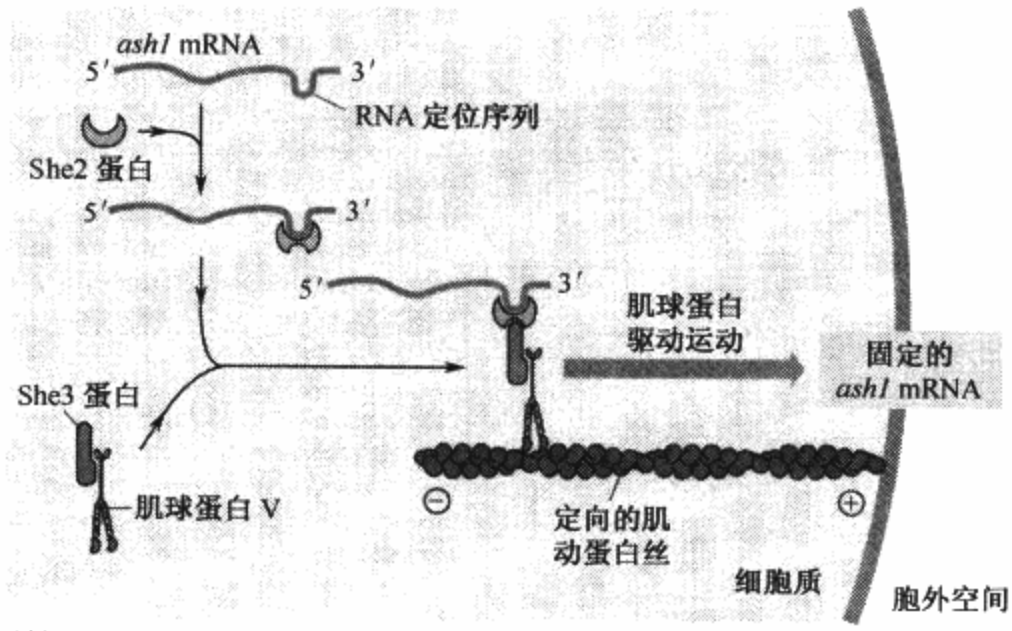
图 16-83　酵母应答交配因子的信号途径

细胞外的交配信号结合到质膜上的 G 蛋白偶联受体。受体的激活触发结合 GTP 的 G 亚基从异源三聚体 G 蛋白（heterotrimeric G protein，讨论见第 15 章）上脱落。Cdc42，哺乳动物中的小 GTP 酶在酵母中的相似物，这种小 GTP 酶的活性可触发丝状伪足的形成［图 16-50（D)］。如同在哺乳动物细胞中一样，Cdc42 激活一种蛋白（Bee1，WASp 的同源蛋白），该蛋白质又可激活 ARP 复合体，导致本地的肌动蛋白在交配因子结合位点成核聚集。本地肌动蛋白的聚集和线性生长导致极化生长和 shmoo 形状的形成。另外，受体的活性通过 MAP 激酶瀑布（MAP kinase cascade，讨论见第 15 章）触发其他应答反应，使单倍体细胞为交配做好准备（没有示出）

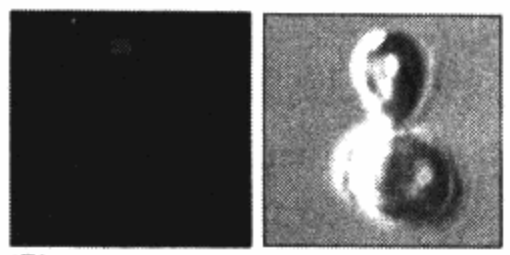
在植物性生长中单倍体的芽殖酵母采用相同的极化机制。为了形成将成为子细胞的芽，酵母必须将大部分新生的质膜和细胞壁材料引导至单一位点。与“shmoo”形成一样，这一过程也需要一个初始的细胞极化过程，同样伴随着大部分肌动蛋白补丁聚集到正在生长的芽和肌动蛋白束沿芽轴方向的定位。在单倍体细胞中，一个新的出芽位点经常在之前的出芽点的临近位置随后形成。在这种情况下，引起细胞骨架极化的空间提示出现在细胞内部，这些提示是上一个细胞分裂周期遗留下来的。Cdc42 又一次参与从既定的出芽位点到细胞骨架的信号转换，并且多数上游和下游途径的相关蛋白已经通过基因筛选被分离出来。在被从酵母体内分离出来之后，多数这些蛋白质的相似物已经在其他生物中被找到，在那里它们经常同样参与细胞极性的形成。

特殊的 RNA 分子由细胞骨架定位

在细胞中，细胞骨架除了被用来定位蛋白质，也被用来定位 RNA 分子。酵母的母细胞和子细胞保持着各自不同的特性，随后表现出的交配能力方面（即交配型转换，讨论见第 7 章）以及对下一个出芽位点选择上的主要区别体现了这些特性。这些区别中有很多是由被称为 Ash1 的调控蛋白引起。ash1 mRNA 和其编码的蛋白质都被专一定位于正在生长的芽中，因此最终只存在于子细胞中。在酵母中发现的两种 V 型肌球蛋白之一的 MyoV 在这一 *ash1* mRNA 不对称分配中是必要的。一组对其他干扰子/母细胞区别的突变的基因筛选已经显示至少还有 6 个与细胞骨架相结合的基因产物对于正常的细胞极性是必要的；这些产物包括原肌球蛋白、微丝结合蛋白（profilin）和肌动蛋白本身，以及一种形成 *ash1* mRNA 中特异序列与肌球蛋白 V 直接连接的双蛋白复合体（图 16-84）。



(A)



(B)

图 16-84　在酵母芽尖极性定位的 mRNA

（A）*ash1* mRNA 极性定位的分子机制，这一定位过程决定于遗传学和生物化学因素。（B）在这个正在分裂的酵母细胞中，荧光原位杂交（fluorescent in situ hybridization，FISH）被用来定位 *ash1* mRNA（红色）。mRNA 被限制在子细胞远端（在这里子细胞仍然是一个巨大的芽）。由这些被固定的 mRNA 翻译出来的 Ash*1* 蛋白同样被限制在子细胞中

［（B）经 Peter Takizawa 和 Ron Vale 许可］

这类 RNA 的选择性定位代表了细胞骨架参与细胞极化的另一种方式。例如，在发育中的果蝇（*Drosophila*）胚胎（讨论见第 21 章）中，一组编码胚胎尾部正常发育必需基因的 mRNA 通过结合肌动蛋白丝被定位于靠后的位置，但这一行为只发生在它们被沿着定向的微管移动的马达蛋白转运到那里之后。在这些更为复杂的系统中识别决定细胞极性的分子和组织规律是一个研究的热门区域。

很多细胞能够爬过固体基底

很多细胞靠在物体表面爬行移动而不是依靠纤毛或者鞭毛泳动。捕食性的阿米巴变形虫在寻找食物时连续爬行并且很容易观察到它们在小水塘中攻击并吞食纤毛虫和鞭毛虫。在动物中，几乎所有的细胞都靠爬行定位，除了游动的精子是一个显著的例外。在胚胎发生过程中，动物的结构的产生依靠单个细胞向特定靶区域迁移和整个上皮细胞层的运动。在脊椎动物中，神经嵴细胞（neural crest cell）因其从原来所在的神经管位置向整个胚胎上

不同位点的长距离运动而引人注目。这些细胞有着不同的命运，成为皮肤色素细胞，感觉神经、交感神经和神经胶质细胞和表面的不同结构。长距离爬行对于整个神经系统的构建是基本的能力：通过这种方式，位于富含肌动蛋白的生长中的轴突的生长锥向它们最终联会的目标行进，这一过程是在沿途的可溶性信号分子和结合到细胞表面及胞外基质的信号分子的指导下完成的。

成年动物同样因细胞的爬行才充满活力。作为整个免疫反应的一个关键部分，巨噬细胞和嗜中性粒细胞爬行到感染区域吞噬外来入侵者。在骨骼重塑和恢复的连续过程中，破骨细胞钻入骨质，形成充满随之而入的造骨细胞的通道。类似地，纤维原细胞能够在结缔组织中迁移，修复受伤的部位上需要修复的损坏组织。在一个有序的进程中，肠道内壁上皮细胞沿着肠道绒毛的侧面游走，更换绒毛顶端丢失的吸收细胞。细胞爬行还在很多癌症中扮演角色，当一个初级肿瘤中的细胞入侵临近组织并爬入血管或淋巴管时，会将癌细胞运送到身体的其他部位形成转移。

细胞爬行是一个高度复杂的整合过程，依靠富含肌动蛋白的位于质膜内侧的皮质。这其中包括三个独立的活动：伸出（protrusion），在这一过程中富含肌动蛋白的结构被从细胞前端挤出；附着（attachment），在这一过程中肌动蛋白骨架与基底进行跨膜的连接；以及牵引（traction），在这一过程中细胞质拖尾的一大部分被向前拔出（图 16-85）。在一些爬行细胞中，如鱼表皮上的角质细胞（keratocyte），这些活动被紧密协调，并且细胞看上去似乎没有变形的平滑的向前滑动。在其他一些细胞中，如纤维原细胞，这些过程相对独立，并且位移过程显得颠簸且不规则。

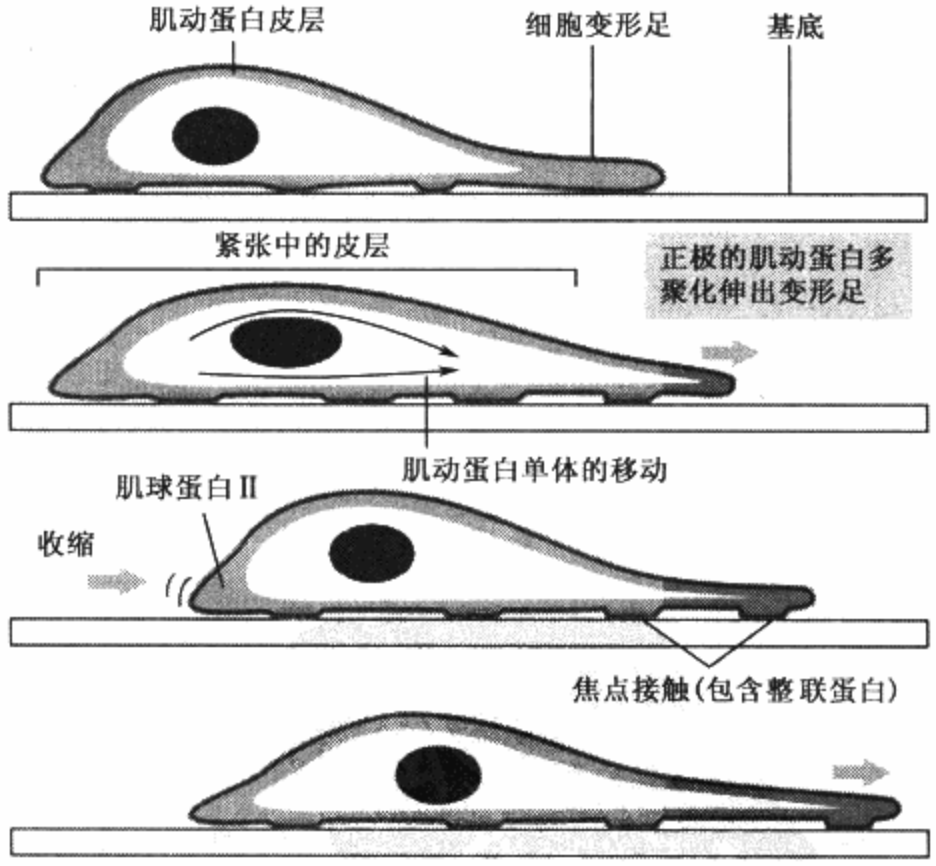


图 16-85　描述富含肌动蛋白的皮层如何产生动力推动细胞前进的模型

位于细胞前缘的片足依靠肌动蛋白的伸出和牢固的附着推进细胞前缘向前运动（前方的绿色箭头），并伸出富含肌动蛋白的皮层。细胞后部的收缩推进整个细胞体向前行进（后方的绿色箭头）以释放部分紧张（收缩）。新的接触焦点在细胞前方形成，而旧的在细胞前进时在后部解离消失。同样的循环可以不断重复，推动细胞一步步前进。或者所有步骤可以紧密地协调起来，推动细胞平滑前进。新形成的皮层肌动蛋白用红色示出

质膜的外凸由肌动蛋白的聚合驱动

细胞位移的第一步，即前缘的突伸，似乎主要依靠肌动蛋白聚合推动质膜外凸产生的力量。不同的细胞类型产生不同的外凸结构，包括丝状伪足（filopodia，也称作微棘，microspike）、细胞变形足（lamellipodia）和伪足（pseudopodia）。所有这些都填充着一个排斥膜性细胞器（membrane-enclosed organelle）的，由密集的丝状肌动蛋白构成的核。三个结构主要在肌动蛋白的组织方式有所不同（分别是一维、二维或三维的），并且我们已经讨论了不同肌动蛋白结合蛋白的参与如何产生这种结果。

丝状伪足由迁移的生长锥体和一些类型的纤维原细胞组成，本质上来说是一维的。它们包含一个长形的，由成束的肌动蛋白丝构成的核，这种核使人想到那些在微绒毛中的类似物，但相比之下更为细长，并且更为活跃。**细胞变形足**由表皮细胞、纤维原细胞和一些神经细胞构成，它们是二维的，薄片状的结构。它们包含一张由肌动蛋白丝垂直交叉相连构成的网，其中大部分位于平行固体基底的平面。伪足由阿米巴变形虫和嗜中性粒细胞形成，为短粗的三维结构外凸，被肌动蛋白丝胶团填充。也许因为它们的平面几何特征最容易在光学显微镜下观察，所以相比丝状伪足和伪足，我们对细胞变形足的动力组织和凸伸机制了解得更多。

细胞变形足包含所有细胞自动力需要的机器结构。它们在鱼和蛙表皮的上皮细胞中已经得到了非常充分的研究，这种细胞就是通常说的“角质细胞”，因其富含角蛋白纤维而得名。这些细胞通常形成上皮层覆盖动物体，并且它们经过特化，使得其可以非常迅速地靠近伤口，移动速率高达 30μm/min。当将其以分散细胞培养时，角质细胞会呈现一种与众不同的形状，即一个巨大的细胞变形足和一个小的、拖尾的、与基底分离的细胞体（图 16-86）。这种角质细胞的碎片可以用微量加液器解离成片。尽管这种碎片通常缺乏微管和膜性细胞器，但它们可以继续正常爬行，看起来像是微小的角质细胞（图 16-87）。

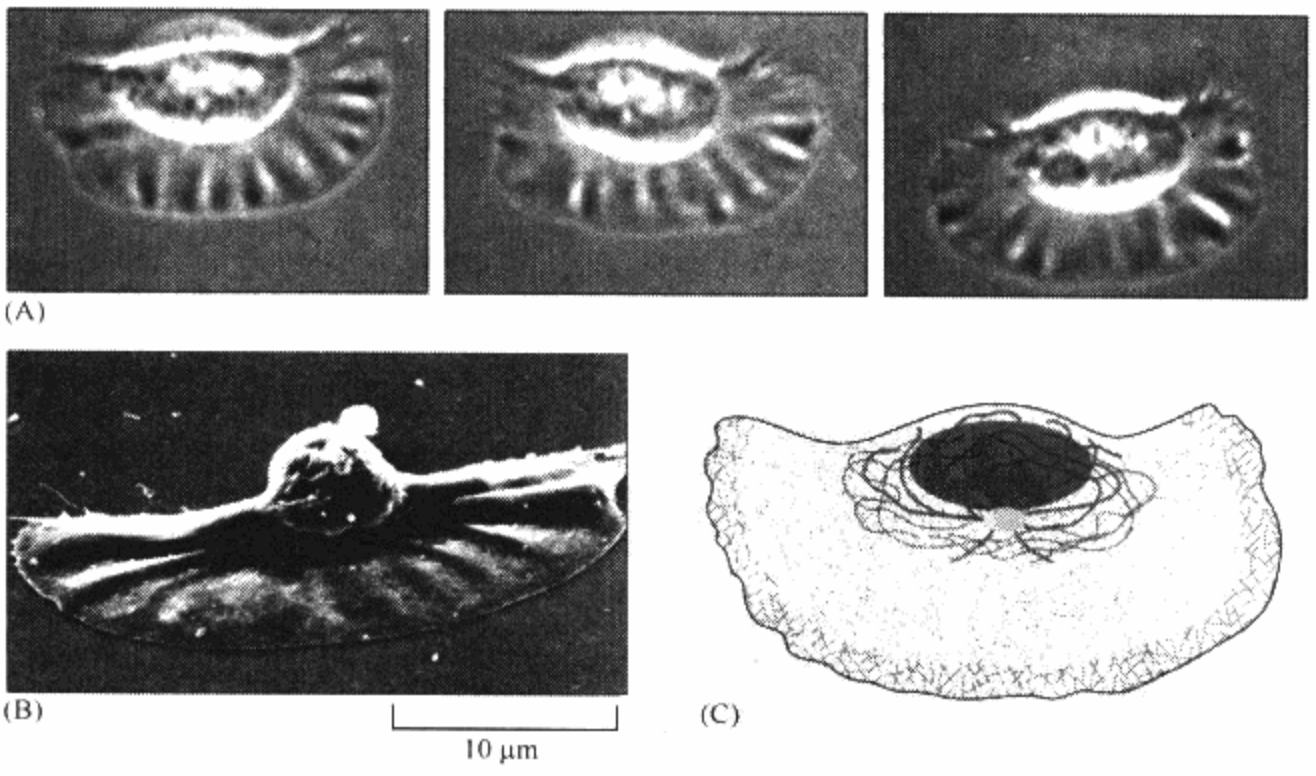


图 16-86　鱼表皮中可迁移的角质细胞

（A）培养的角质细胞的光学显微镜图像，相隔 15s 拍摄。细胞移动的速度大约 15μm/s。（B）扫描电镜下的角质细胞，显示出它宽而平的细胞变形足的较小的细胞体，细胞核在尾部被抬升离开基底。（C）细胞中细胞骨架的分布。肌动蛋白丝（红色）填充在细胞变形足中，负责细胞的快速运动。微管（绿色）和中间丝（蓝色）被严格限制在细胞核周围区域［（A）和（B），经 Juliet Lee 许可］

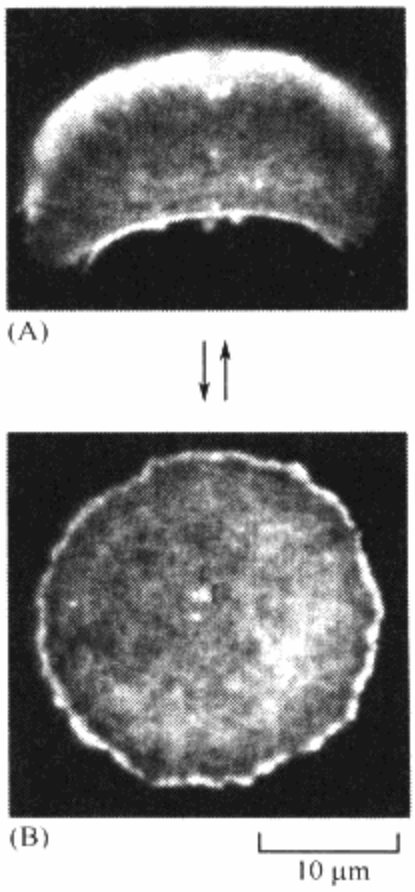


图 16-87　细胞变形足碎片的行为

通过使用微量注射器手术或特定的药物处理，角质细胞的巨大细胞变形足的碎片可以从主细胞体分离。(A) 很多这些细胞碎片继续迅速移动，并且其整个细胞骨架组织结构与完整的角质细胞相同。肌动蛋白（蓝色）在碎片的前端组成突出的网状结构。肌球蛋白Ⅱ（粉色）在碎片的后部聚集成一条带。这一细胞碎片在被固定和染色时正向照片的顶部移动。(B) 有些碎片停止了移动并形成对称的圆形。肌动蛋白（蓝色）均匀环绕圆周分布，而肌球蛋白（粉色）则被发现在细胞质中呈点状分布。这些圆形的碎片试图向各个方向均匀的突伸，并因此瘫痪。只有前方的突伸和后方的收缩协调配合才能维持稳定的运动（摘自 A. Verkovsky et al.，*Curr. Biol.* 9：11～20，1999. © Elsevier）

通过标记一小片肌动蛋白并考察它的命运，肌动蛋白丝的动力行为可以在角质细胞的细胞变形足中加以研究。这一研究表明，当细胞变形足向前爬动，肌动蛋白丝相对基底保持固定。网络中的肌动蛋白丝大多将正极指向前方；负极经常通过 ARP 复合体（图 16-28）与其他肌动蛋白丝相连，协助形成二维网络（图 16-88）。整个网络看起来似乎在运行单调的工作，在前方聚合在后方解聚，令人回想起前边讨论过的发生在单独的肌动蛋白丝和微管上的单调重复事件（图 16-9）。

保持依靠细胞变形足的单向运动被认为需要多个因素的合作和机制整合。蛋白丝成核发生在前缘位置，新生肌动蛋白丝的生长主要发生在这一位置从而推动质膜前进。大部分蛋白丝解聚发生在位于前缘适当后方的位点。因为切丝蛋白（cofilin，图 16-34）协同并优先结合含有 ADP 肌动蛋白（D 式）的肌动蛋白丝，所以在前缘新生的 T 型蛋白丝应该对切丝蛋白作用下的解聚作用有抗性（图 16-89）。当蛋白丝变老 ATP 水解发生，切丝蛋白可以有效地解聚旧的肌动蛋白丝。这样，肌动蛋白延迟水解 ATP 被认为提供了这样一个保持高效单向重复运动的机器的基础（图 16-90）。最后，双极性的肌球蛋白Ⅱ似乎与网络中的肌动蛋白丝相连，并使之重新定向，从接近垂直到基本平行于前缘的方向。这一收缩过程阻止外伸，并且发生在移动的细胞变形足的边缘内部，从而有助于随着细胞的移动而聚集在细胞的边缘。

细胞的黏附和收缩允许细胞推进自己前进

现有证据表明所有细胞的细胞变形足享有这一共同机制，但细胞与其物理环境间的相互作用经常使情况变得复杂，远不像鱼的角质细胞在培养皿上爬行那样简单。细胞骨架和细胞黏附间的紧密耦合在细胞位移的过程中具有独特的重要性。尽管某种程度上说与基底的黏附对于所有形式的细胞爬行都是必要的，然而黏附和细胞位移的速率似乎是呈负相关的，也就是说黏附程度高的细胞比黏附程度低的细胞移动速度要慢。胶质细胞与基底的黏附作用是如此之弱以至于肌动蛋白聚合可以推动细胞前缘非常迅速地前进。相反地，当把从海底的软体动物海兔（aplysia）体内提取的神经细胞在黏性的基底培养时，它们会形成巨大的细胞变形

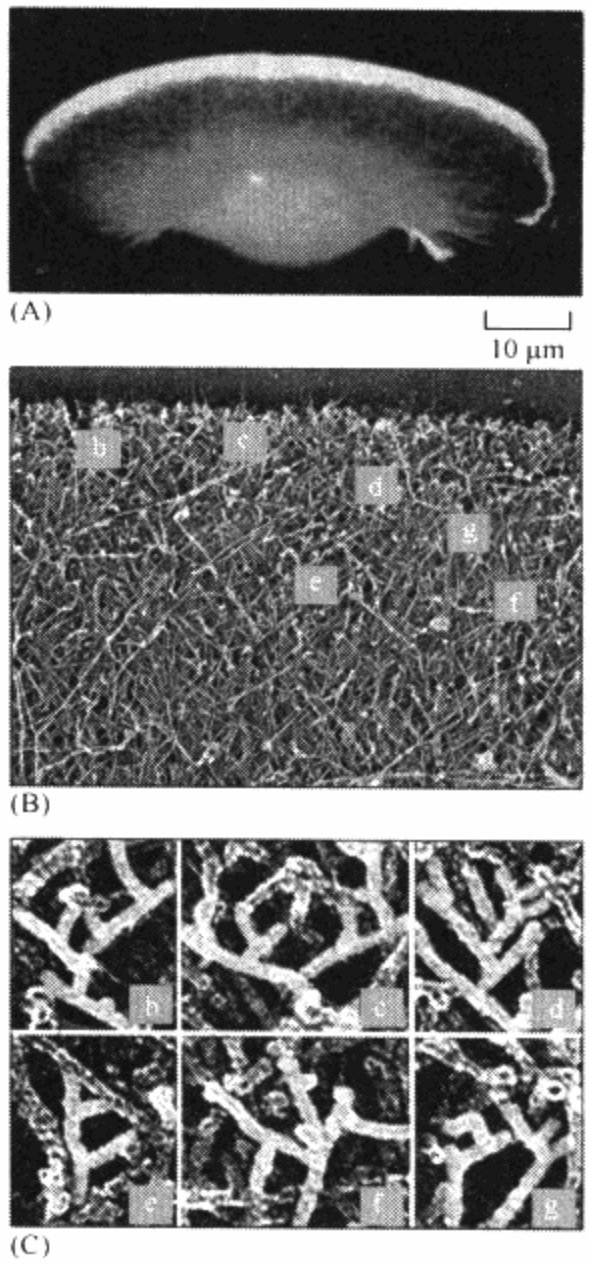


图 16-88　细胞变形足中在 ARP 复合体的作用下肌动蛋白聚集成核并形成网状结构

（A）一个角质细胞的显微照片，其中的肌动蛋白用荧光鬼笔环肽标记为红色，ARP 复合体用复合体中一种蛋白质成分的抗体标记为绿色。两者重合的区域显示为黄色。ARP 复合体在肌动蛋白核最为活跃的细胞变形足前端高度聚集。（B）角质细胞前缘的铂复印版（platinum-shadowed replica）电镜照片，显示出密集的肌动蛋白丝网络。标签指示的区域在（C）图中被放大。（C）（B）图中细胞前缘肌动蛋白网被标记区域的近照。可以看到无数带分支的肌动蛋白丝，分叉部位 70°的特征性角度是 ARP 复合体在旧微丝侧部聚集新微丝时形成（图 16-29）（摘自 T. Svitkina and G. Borisy, *J. Cell Biol.* 145: 1009～1026, 1999. © The Rockefeller University Press）

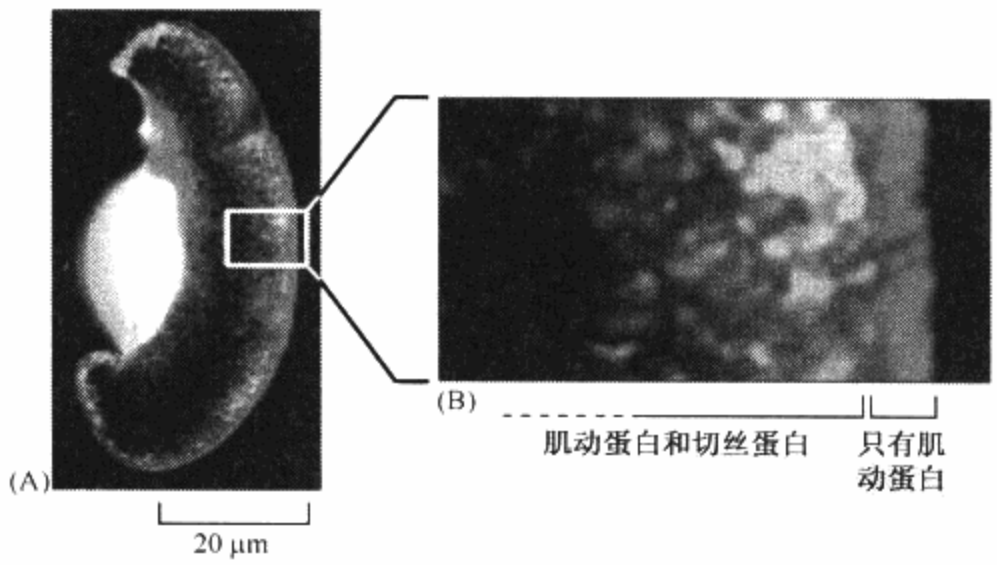


图 16-89　细胞变形足中的切丝蛋白

（A）单个角质细胞，其中的肌动蛋白丝用荧光鬼笔环肽标记为红色，切丝蛋白用荧光抗体标记为绿色。两者重合的区域显示为黄色。尽管致密的肌动蛋白网络遍布整个细胞变形足，但没有在最前缘发现切丝蛋白。（B）（A）图中矩形标记区域的近照。最前缘的肌动蛋白丝为最新形成，在这里的微丝网络中大多为 ATP 肌动蛋白（而非 ADP 肌动蛋白），并且它们大多不结合切丝蛋白（摘自 T. Svitkina and G. Borisy, *J. Cell Biol.* 145: 1009～1026, 1999. © The Rockefeller University Press）

足，使得黏着力过强以至于细胞难以前行。在这些细胞变形足中，新生肌动蛋白丝的局部成核、旧蛋白丝的解聚，以及依赖肌球蛋白丝收缩构成的循环不断进行。但因为细胞前缘对前

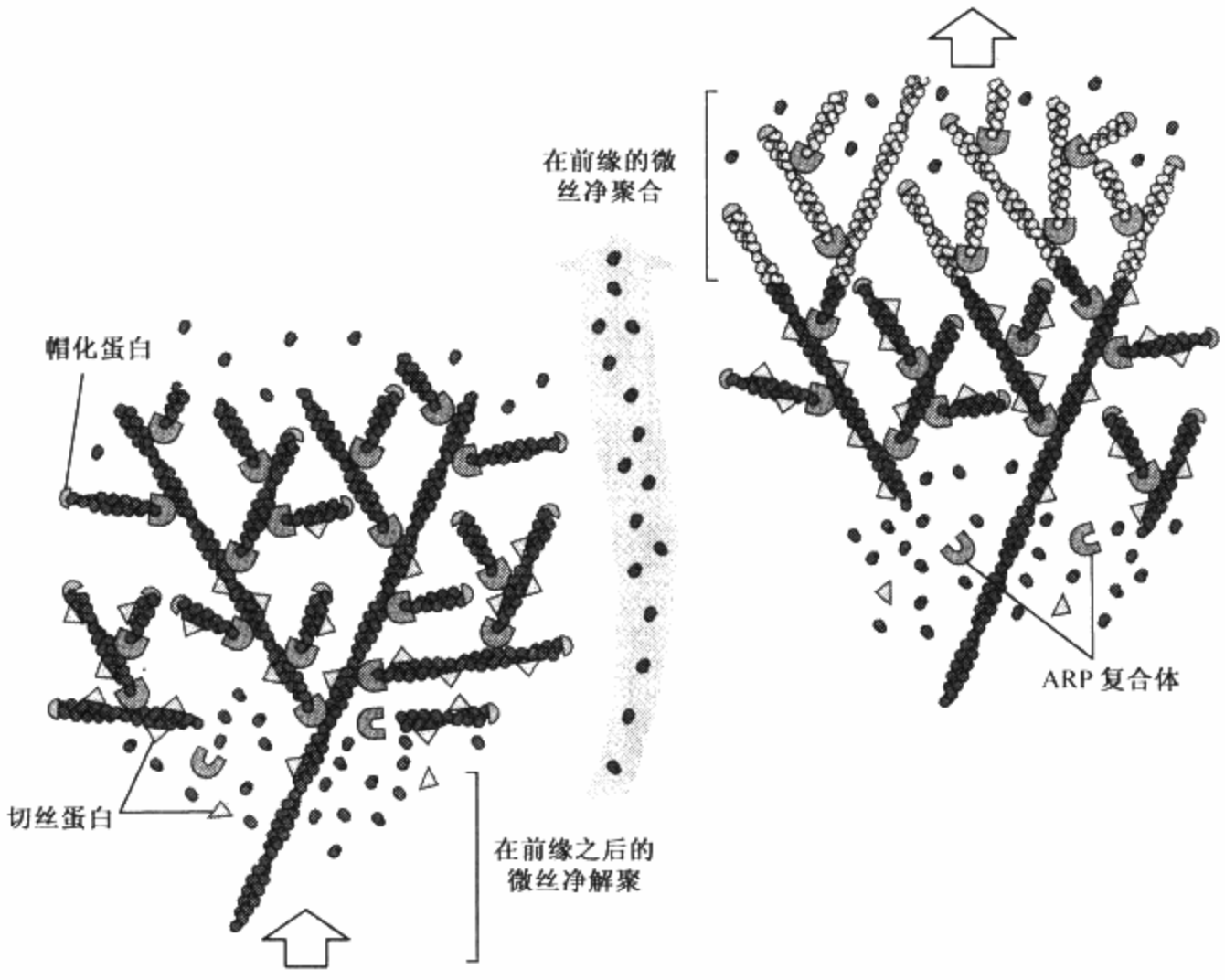


图 16-90　描述细胞前缘肌动蛋白丝网络突伸的一种模型

图中显示了细胞变形足前进中两个时间点，较迟时间点中新形成的结构用浅色表示。成核过程由前部的 ARP 复合体介导。新成核的肌动蛋白丝被附着到旧蛋白丝的侧部，形成大约 70°的角度。蛋白丝延长，在其后方序列的一些锚定作用下推动细胞膜前进。肌动蛋白丝正极在恒定速率下被帽化。在蛋白丝网络中随着新聚合的肌动蛋白亚基水解连接其上的 ATP，蛋白丝开始变得易于被切丝蛋白水解。这一循环引起了蛋白丝在前部的净聚合和后部净解聚的分离，因此肌动蛋白丝网络能够整体前进，尽管网络中单个的肌动蛋白丝相对于基底保持静止

进的阻碍作用，所以整个肌动蛋白网络转而向细胞体方向后移（图 16-91）。多数细胞的黏附情况介于这两种极端情况之间，而且大多细胞变形足与前方肌动蛋白丝的伸出（如角质蛋白）以及肌动蛋白向后退行（如海兔的神经细胞）都展示出一定的关联。

当丝状伪足、细胞变形足或者伪足在基底上向前伸展时，它们可以形成新的附着位点。这些附着位点可以用反射干涉显微镜（interference reflection microscopy）观察到，它们位于细胞膜极接近基底的部位。在爬行的细胞中，包含着很多与焦点收缩过程中相同分子机器（图 16-49）的单个的附着位点，这些位点主要形成于细胞的前方并且在细胞向前移动经过它们时保持固定，直到细胞的尾部赶上它们。当一个细胞变形足不能附着在基底时，它经常被抬升到细胞的上表面并迅速后移，如同一个“褶皱”（图 16-92）。

位于细胞前缘的附着位点起到锚定点的作用，这些锚定点允许细胞在基底上产生牵引并推进细胞体前进。牵引力似乎由肌球蛋白和马达蛋白产生，特别是肌球蛋白Ⅱ。在很多移动中的细胞中，肌球蛋白Ⅱ在细胞的后部高度聚集（图 16-93）。缺乏肌球蛋白Ⅱ的黏霉菌阿米巴可以以正常的速度伸出伪足，但细胞体的移动比野生型阿米巴慢得多，这表明了肌球蛋白Ⅱ收缩在这一部分细胞位移循环中的重要性。肌球蛋白Ⅱ的活动如何推进细胞前进目前还不清楚。人们可能设想

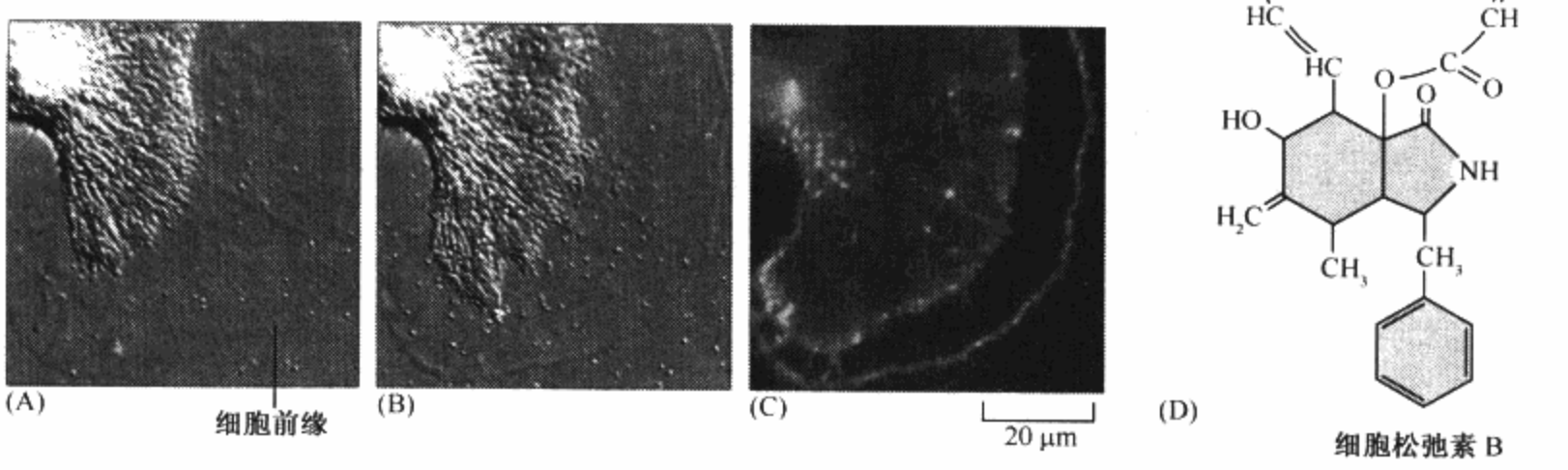


图 16-91　细胞变形足生长冠中肌动蛋白丝网络的后行运动

（A）海生软体动物海兔神经细胞的生长冠在黏性基底上培养并用微分干涉对比显微镜（differential-interference-contrast）观察。微管和膜性细胞器被限制在生长冠明亮的后部区域（左），而肌动蛋白丝网络则充斥着细胞变形足（右）。（B）用可以帽化肌动蛋白丝正极的药品细胞松弛素短暂处理后（表 16-2），肌动蛋白网络从细胞变形足前缘脱离并被拉回。（C）在（B）所示的时刻，细胞被固定并用荧光鬼笔环肽标记以显示激动蛋白丝的分布。一些肌动蛋白丝滞留在前缘，但前缘稍靠后的区域却完全不存在肌动蛋白丝。注意后行肌动蛋白丝网络的清晰界限。（D）细胞松弛素 B 复杂的环状结构［（A）、（B）和（C），经 Paul Forscher 许可］

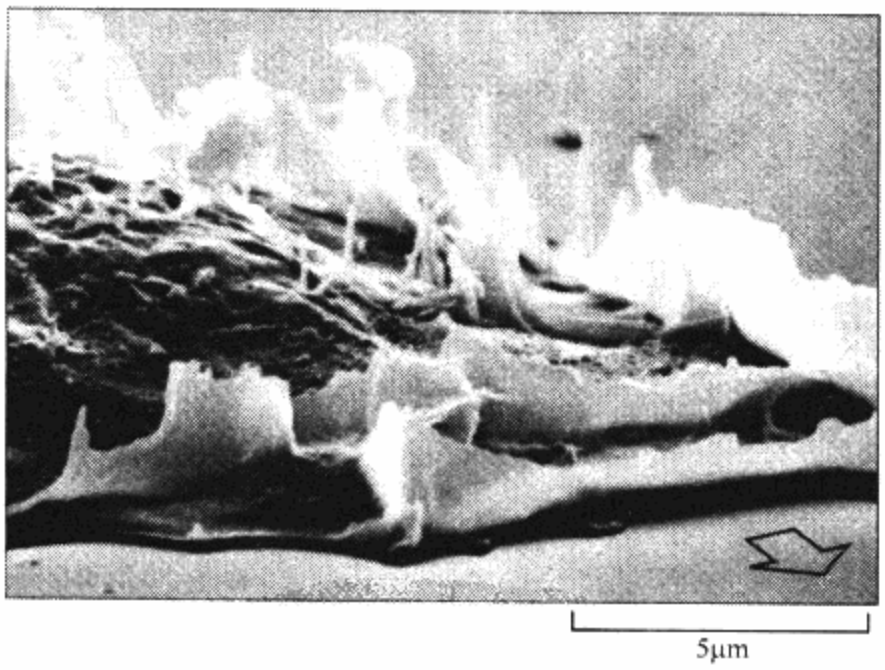


图 16-92　迁移中的培养的人纤维原细胞细胞变形足及其前缘上的褶皱

这张扫描电镜照片上的箭头指出了细胞运动的方向。当细胞前进时，未能附着到基底的细胞变形足经过细胞背面被扫向后方，这一过程被称为起皱（经 Julian Heath 许可）

是收缩性的肌动蛋白束和肌球蛋白连接细胞的后部和前部应该是比较可靠的；但至少在一些细胞中观察肌球蛋白Ⅱ的分布的结果暗示了某种不同的策略，即图 16-85 中所描述的。细胞尾部富含肌动蛋白的皮层的收缩可以同样选择性地弱化陈旧的，倾向于固定细胞的黏附相互作用。另外，肌球蛋白Ⅱ可能利用一组极性的肌动蛋白丝序列运转细胞体成分前进。

位移细胞产生的牵引动作竭力在基底表面产生有效的牵拉（图 16-94）。在活体动物中，

多数爬行细胞在由胞外基质构成的半弹性基底上移动，这些胞外基质可在这些细胞的作用力下解体并重新组织。在细胞培养时，纤维原细胞在由胶原纤维排列构成的胶原质凝胶中的移动产生有组织的胞外基质，反过来，这种基质影响着在其中穿行的纤维原蛋白的形状和移动方向（图 16-95）。这种细胞与其物理环境的双向机械性互相作用被认为是脊椎动物组织自我组织活动的主要方式。

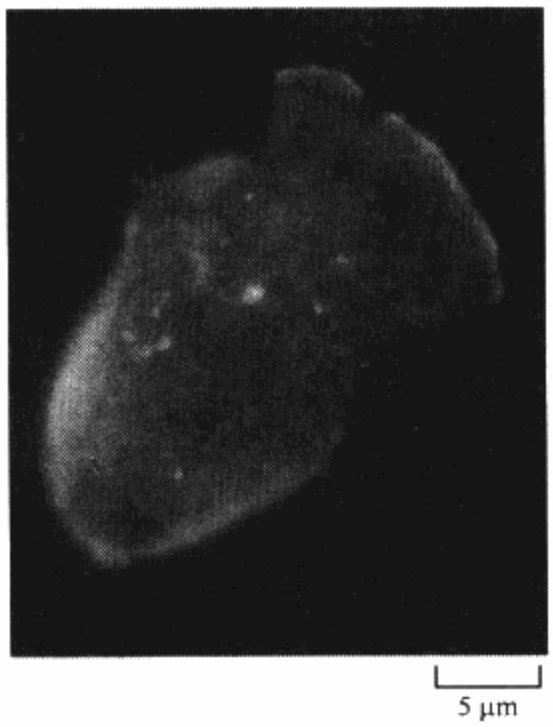


图 16-93　正常爬行的黏霉菌阿米巴中肌球蛋白Ⅰ和肌球蛋白Ⅱ的位置

当被固定并用两种蛋白质的特异性抗体标记时，这个细胞正向右上方爬行。大部分肌球蛋白Ⅰ（绿色）被限制在细胞前方的伪足的前缘。肌球蛋白Ⅱ（红色）在前部富含肌动蛋白的皮层含量最高。在肌球蛋白Ⅱ作用下细胞前部皮层的收缩可能帮助推动细胞体前进（经 Yoshio Fukui 许可）

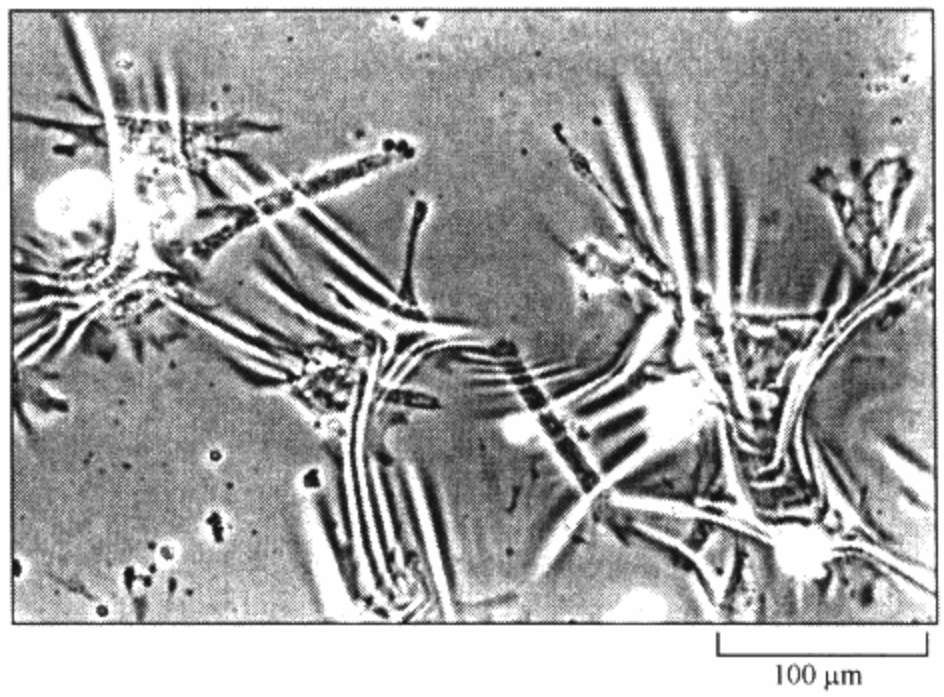


图 16-94　黏性细胞在基底上产生牵引力

这些纤维原细胞被培养在一层很薄的硅胶上。细胞骨架收缩发生之前的细胞附着作用使基底皱褶（摘自 A. K. Harris, P. Wild, and D. Stopak, *Science* 208: 177～179, 1980. © AAAS）

外部的信号可以指导细胞迁移的方向

细胞位移需要细胞的初始极化以确定方向。严密控制的细胞极化过程同样为组织中细胞的定向分化和连续有组织的多细胞结构的形成所必需。脊椎动物中产生细胞极性的分子机制刚刚开始被了解。目前我们所知有关这一主题的大多信息来源于对酵母、果蝇和线虫的遗传学研究。尽管如此，在所有已知情况下，细胞骨架都占据着中心角色，并且很多分子成分在进化上具保守性。

除非是作为对环境中提示信号的应答，否则被极化细胞的运动几乎没有作用。这些提示信号既可以是化学性的也可以是物理性的。化学趋向性（chemotaxis）被定义为细胞移动的方向由某种可扩散化学物质的浓度梯度控制。研究最充分的例子就是一类白细胞的趋化运动，即嗜中性粒细胞（neutrophil）向细菌感染源的运动。嗜中性粒细胞表面的受体蛋白使细胞能够察觉极低浓度的来源于细菌蛋白的 *N*-甲酰化的多肽（只有原核生物合成蛋白质时的起始氨

基酸为 N-甲酰蛋氨酸）。利用这些受体，嗜中性粒细胞可以探测出某个方向上这些可扩散的肽相对于其他方向仅仅 1%的浓度差别，从而被引导向细菌目标（图 16-96）。无论是在这一例子中还是在黏霉菌阿米巴趋向 cAMP 的例子中，当受体结合配体时受体周围局部的肌动蛋白多聚化会被触发。这一肌动蛋白聚合反应依靠之前讨论过的单体 GTP 水解酶 Rho 家族。如同在 shmoo 形的酵母中（图 16-83），应答细胞伸出一个指向信号的凸起。指向细胞一侧的凸伸行为的优先定位间接导致了牵引产生机器的重新定位，随后细胞体跟着它的“鼻子”向吸引它的信号移动。

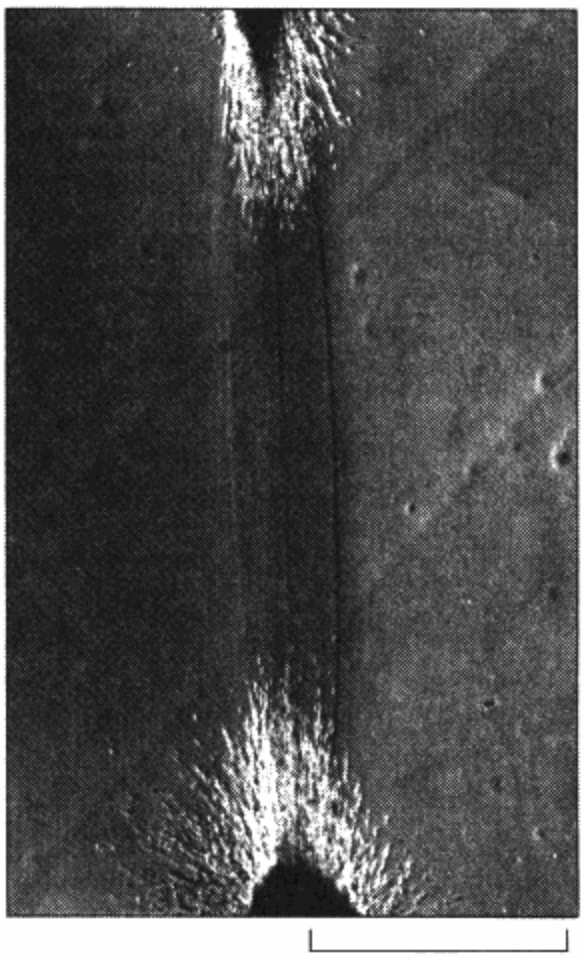


图 16-95　细胞推动作用下的胞外基质的成形

这幅显微照片显示了两片在胶原质冻中培养了 4 天的鸡胚心（这种组织富含纤维原细胞和心肌细胞）的中间区域。一条胶原纤维排列构成的致密痕迹在两个器官中间形成，很显然这是由于纤维原细胞在胶原上拖迤的结果（摘自 D. Stopak and A. K. Harris, *Dev. Biol.* 90：383～398，1982. © Academic Press）

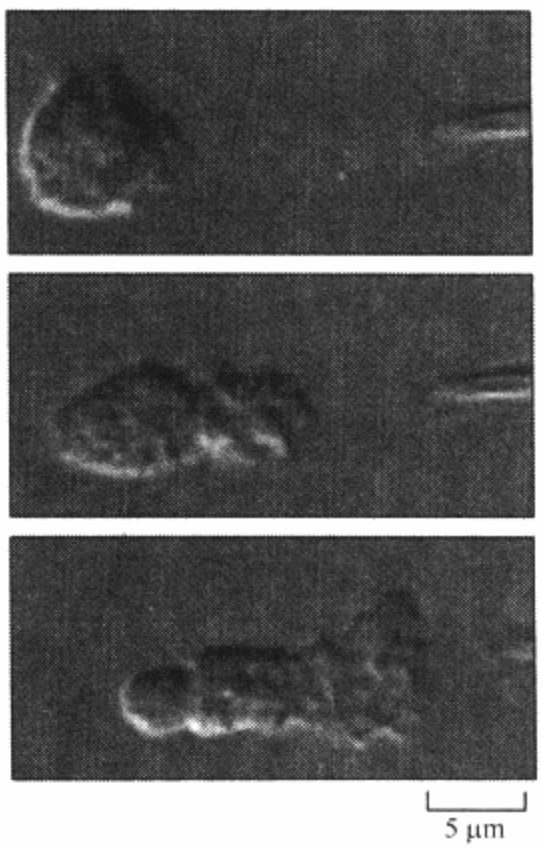


图 16-96　嗜中性粒细胞的极化和趋化性

右边所示的吸液管尖释放出少量的甲酰化蛋氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸（formyl-Met-Leu-Phe）三肽分子。只有细菌蛋白具有甲酰化的蛋氨酸残基，故人体嗜中性粒细胞把这类肽识别为外来入侵者的产物（讨论见第 25 章）。嗜中性粒细胞向化学吸引性肽源快速伸出新的细胞变形足（最上图）。紧接着它伸出变形足，极化细胞骨架使大部分收缩性的肌球蛋白Ⅱ被定位在后部，与细胞变形足位置相对（中间图）。最后，细胞爬向肽源（下图）。如果肽源是一个真正的细菌而不是研究者的吸液管，嗜中性粒细胞就会吞入并摧毁它（摘自 O. D. Weiner et al., *Nature Cell Biol.* 1：75～81，1999. © Macmillan Magazines Ltd）

附着在胞外基质或细胞表面的非可扩散性化学提示同样可以影响细胞迁移的方向。这些信号引起的受体激活可以引起细胞黏性的增加，另外也可以指导肌动蛋白的聚合。动物中大多长距离的细胞迁移，包括神经冠细胞迁移和神经细胞生长锥，都依靠可扩散和非可扩散的信号驱使迁移细胞或生长锥向其适当的目的地生长（图 21-98）。

细胞利用微管协助组织在特定方向的持续运动。在很多位移细胞中，中心体的位置受到肌动蛋白突伸多聚化发生位置的影响，往往在核的前方被发现。中心体重新定向的机制目前

还不清楚。受体在细胞的某个位置被激活可能不单会触发这一位置的肌动蛋白聚合（并因此局部凸伸），还会局部激活沿细胞微管拉动中心体的类胞质动力蛋白的马达蛋白。中心体聚集着大量的动力微管，它的重新定位意味着这些微管中有很多将其正极从微管伸向细胞凸伸的区域。动力微管正极可能间接地调节了局部黏性并同样激活 GTP 酶 Rac，以进一步增加凸伸区域的肌动蛋白多聚化。增加的微管聚集并因此促进进一步的凸伸，形成一个正反馈循环，使得凸伸运动性能够在相同方向持续更长的时间。不考虑其精确的机制，中心体的定向似乎加强了细胞骨架从外部接收的极化信号，使其能够对弱信号做出反应。

在其他的细胞极化的例子中似乎也存在着类似的循环。一个特别有趣的例子是细胞毒 T 细胞攻击杀死特定的目标细胞。这些细胞杀死表面载有外来抗原的细胞，是脊椎动物对感染的适应性免疫反应体系的关键组成成分。当 T 细胞表面的受体识别出目标细胞表面的抗原时，Rho 家族的 GTP 水解酶即被激活并引起两细胞接触区域内侧的肌动蛋白多聚化，造成皮层中的一片特殊区域。这一特异区域引起中心体的重新定向，并随微管一起向 T 细胞靶细胞的接触位点移动（图 16-97）。反过来，微管将高尔基体正确定位在接触区域内侧，将杀灭系统瞄准靶细胞。杀灭细胞的机制将在第 24 章讨论。

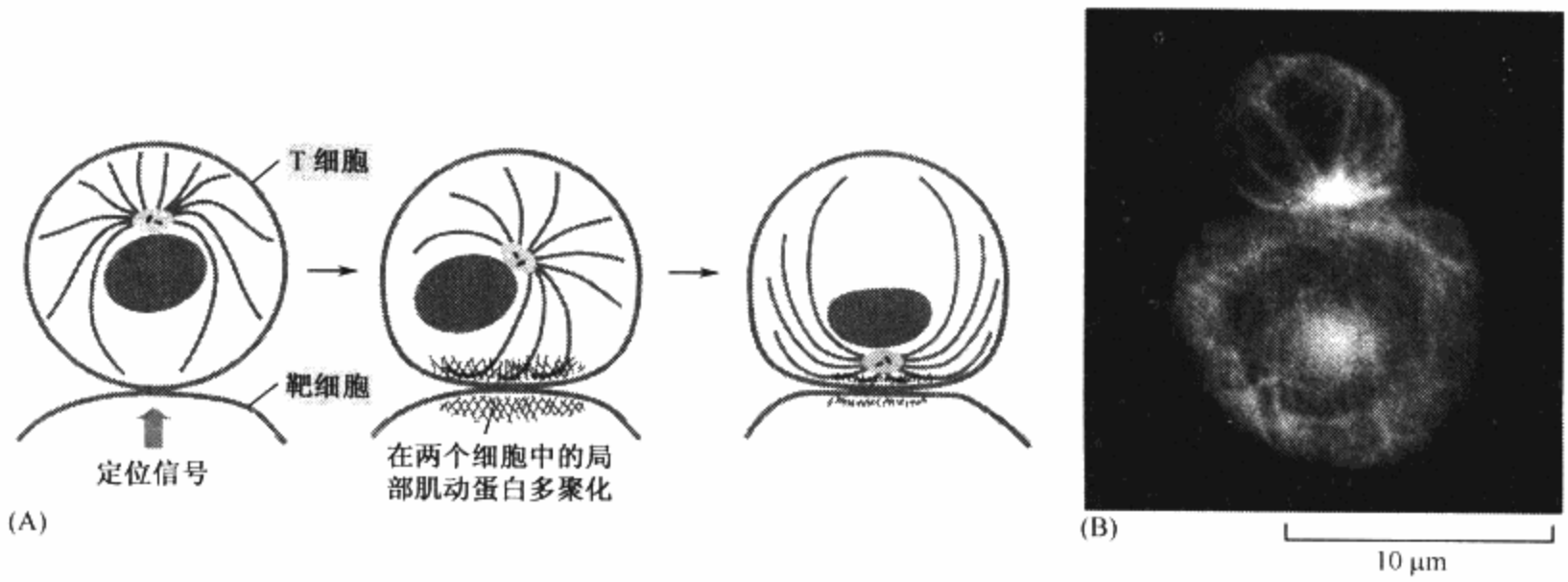


图 16-97　细胞毒 T 细胞在识别靶细胞后的极化

（A）细胞毒 T 细胞接触靶细胞后细胞骨架的变化。初始的识别过程产生信号，这一信号引发双方细胞内部在接触位点的肌动蛋白多聚化。在 T 细胞中，富含肌动蛋白的接触区域和从中心体发射的微管间的相互作用导致中心体的重新定向，于是与之相结合的高尔基体直接与靶细胞相对。（B）在这幅免疫荧光显微照片中，T 细胞（上方）和其靶细胞（下方）都被微管的抗体标记染色。T 细胞中的中心体和从其中放射出的微管指向细胞接触点。与之相比，排列在靶细胞中的微管没有被极化［(B)，摘自 B. Geiger, D. Rosen and G. Berke, *J. Cell Biol.* 95：137～143, 1982. © The Rockefeller University Press］

神经细胞复杂的形态特化依靠细胞骨架

真核生物与原核生物之间的很多显著的差别都是真核生物细胞骨架所引发的。由马达蛋白执行的细胞内组分可调控的直接运输使真核细胞超越扩散速率的限制，而正是这种限制约束了原核细胞的生长。同时，细胞骨架为细胞的精致建构提供了支架，这也是真核细胞的特征（图 1-27；专题 16-1）。关于这两个有关尺寸和构建复杂性方面的特征，没有比神经细胞更好的例子了。

能够利用以肌动蛋白为基础的动力系统迁移到特定位置的神经细胞在胚胎时期发生时就

显得不同寻常。在那里，它们发出一系列特化的长凸起，它们可以接收电信号（树突）或将这些电信号传达到靶细胞（轴突）。两种类型的凸起（总称神经突）都充斥着一束束微管，这些微管无论对于其结构还是功能都至关重要。

在轴突中，所有微管都沿着相同的方向，它们的负极向后指向细胞体，而正极向前指向轴突末端（图 16-98）。这些微管并不是从细胞体一直延伸到轴突末端；每条微管通常只有几微米长，但大量的微管可以交错排列成部分重叠的序列。这一排列完美的微管序列轨道运行起来犹如一条运输特异蛋白和蛋白质小泡的高速公路。这些物质是轴突末端构建和维持突触结构所必需的，但它们只能在细胞体和树突中被合成，在这两个位置细胞储存着其所有的核糖体。人体中最长的轴突从脊髓的基部延伸至大脚趾端，长达 1m。线粒体、大量被运输泡包裹的特异蛋白以及突触小泡前体向前方（顺行）进行长距离旅行。它们被正极向的驱动蛋白家族马达蛋白运输，一天之内可以行进 1m，这一速度相对于扩散作用是一个巨大的改进，如果单纯依靠扩散作用，将线粒体运送这样一个距离需要将近 8 年的时间。很多驱动蛋白超家族的成员参与了这一顺行轴突运输（anterograde axonal transport）过程，它们主要沿微管运输特异门类的膜性细胞器。轴突运输中使用的驱动蛋白家族马达蛋白的多样化暗示它们不但参与特异性运输，也参与定位特异目标。同时，轴突末端的陈旧成分被运回细胞体以降解循环；这一逆行轴突运输（retrograde axonal transport）沿着同样的定向微管发生，并且依赖于胞质动力蛋白，即一类负极向的马达蛋白。

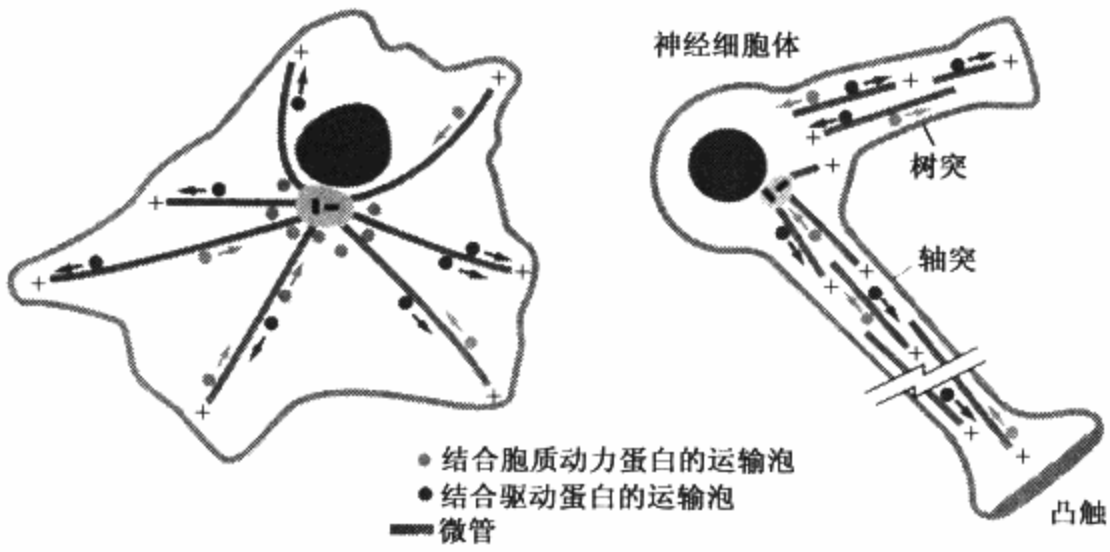


图 16-98 纤维原细胞和神经细胞中的微管组织

（A）在纤维原细胞中，微管从细胞中央的中心体中发散出来。结合了正极向驱动蛋白的运输泡向外移动，结合负极向胞质动力蛋白的运输泡向内移动。（B）在神经细胞中，微管组织更为复杂。在轴突中，所有微管具有相同的极性，正极指向微管末端。并没有哪个单个的微管贯穿整个轴突的长度；取而代之的是，短的相互重叠的平行微管的片段构成了快速运输的轨道。在树突中，众多微管的极性是混合的，一些正极指向外而另外一些则朝内

轴突的结构依赖于微管，以及另两种主要的细胞骨架系统——微丝和中间丝。微丝分布于轴突的皮层，仅贴着细胞膜下层，并且依赖肌动蛋白的马达蛋白如肌球蛋白Ⅴ在轴突中同样丰富；尽管它们的确切功能还不清楚，但它们可能帮助运输物质。神经丝是神经细胞特化的中间丝，为轴突提供最重要的结构支撑。神经丝结构的瓦解，或是连接神经丝和沿轴突分布的微丝与微管的交叉连接蛋白的破坏，都会引起轴突的解体和最终的退化。

发育中的神经细胞的精巧的分支结构依赖于以肌动蛋白为基础的自动性。正如之前提到的，生长中的轴突和树突的尖端以生长锥的方式伸展，这是一种特化的富含肌动蛋白的动力结构（图 16-99）。多数神经细胞生长锥产生丝状伪足，其中一些还称为细胞变形足。生长锥丝状伪足的伸展和固定对环境信号很敏感。一些细胞分泌可溶性蛋白质（如 netrin），以吸引或抑制生长锥。另外，沿途还有固定的指导标志，这些标志物连接在胞外基质或细胞表面。当一个丝状伪足在它的探索旅程中遇到这样一个“路标”，它会快速地形成附着接触。一个依赖于肌球蛋白的肌动蛋白网络瓦解过程被认为发生在生长锥的不稳定部分，继而导致生长中的轴突转向路标生长。另外一些细胞外导向信号具有排斥作用，导致生长锥在信号活动的位点坍塌。一个由正信号和负信号、可溶物和不溶物组成的复杂组合体系精确地指导着生长锥向其最终目的地生长（讨论见第 21 章）。

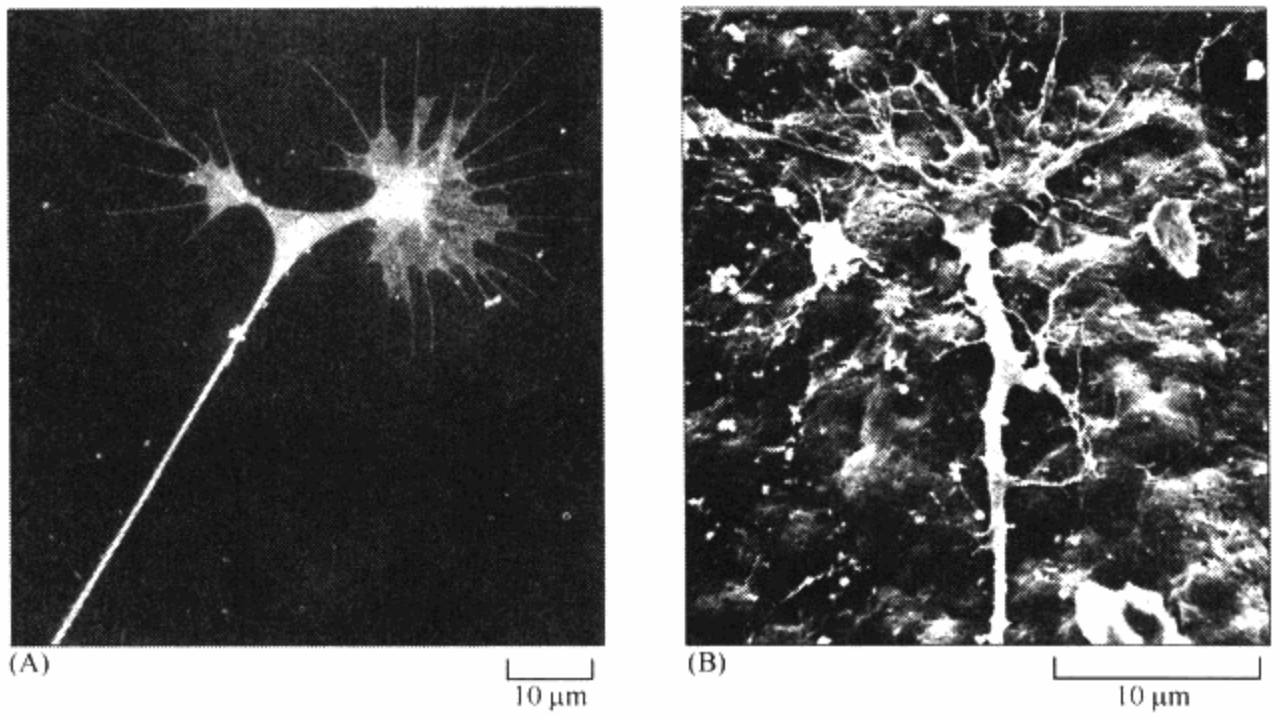


图 16-99　神经细胞生长锥

（A）两个神经突末端生长锥的扫描电镜照片，样品来自培养的鸡交感神经元细胞。在这里，一个本来单个的生长锥刚刚一分为二。注意众多的丝状伪足和巨大的细胞变形足。神经突紧张的外观是因为生长锥的前进产生的牵引，这些生长锥经常是轴突附着基底的唯一固定点。（B）感觉神经元生长锥的扫描电镜照片，这个神经细胞正爬过一只爪蟾（*Xenopus*）蝌蚪表皮的内表面［（A），摘自 D. Bray, in Cell Behaviour (R. Bellairs, A. Curtis, and G. Dunn, eds.). Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1982；（B）摘自 A. Roberts, *Brain Res.* 118：526～530，1976. © Elsevier］

生长锥前缘富含肌动蛋白的突伸决定了生长方向，而微管进一步加强了方向的决定。轴突中平行排列在生长锥之后的微管不断生长进入生长锥并由于动态不稳定性不断缩回。黏附性的指导信号以某种方式被传递到动力微管的末端，因此沿着正确的方向生长的微管得以免遭解体从而趋于稳定。这样，一条富含微管的轴突留在了后面，标记着生长锥旅行的路线。

树突是通常比轴突短得多的凸起，它们负责接收信号而不是发送信号。树突中的微管全部互相平行排列，但它们的极性是混合的，一些微管的正极指向树突末端，而另一些的正极指向细胞体。然而，树突的形成同样是生长锥活动的结果（图 21-97）。沿着它们复杂的路线，轴突和树突顶端的生长锥创造了成熟神经细胞复杂而高度个体化的形态（图 16-100）。这样，

细胞骨架提供了构建整个神经系统的发动机，以及加强、稳定和维持其各个部分的支持结构。

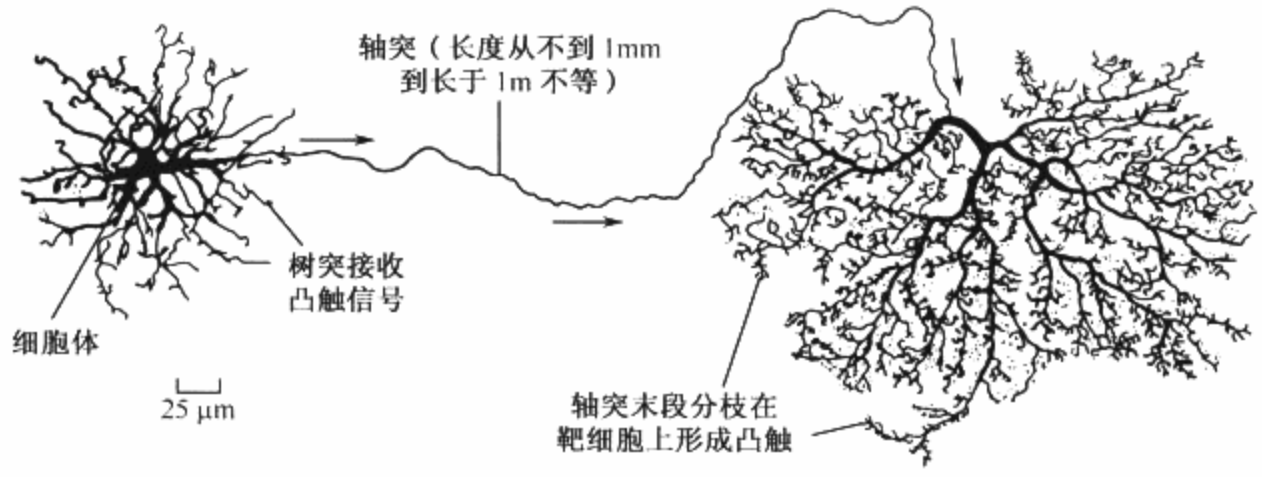


图 16-100　一个脊椎动物神经细胞的复杂建构

图中所示的神经细胞来自猴的视网膜。箭头指出了电信号沿轴突传递的方向。人体中最长最大的神经元延伸有大约1m（$1\times10^6\mu m$）的距离，从脊髓的基部一直到大脚趾的顶端，并且其轴突直径达15μm［摘自 B. B. Boycott, in Essays on the Nervous System (R. Bellairs and E. G. Gray, eds.). Oxford, UK: Clarendon Press, 1974］

小结

整个细胞的移动和细胞的大规模成形和构建需要所有三种基本蛋白丝系统的协同活动，沿着这些骨架附着着包括马达蛋白在内的辅助蛋白。细胞爬行（一种在胚胎发育和成年动物的伤口愈合，组织维持及免疫系统运行过程中的普遍行为）是细胞骨架复杂的协同运作的最好例子。一个细胞若要爬行，它必须产生并维持总体结构上的极化，这一过程受到外部提示的影响。微管和肌动蛋白细胞骨架之间的相互作用增强了极性。另外，细胞必须在其前缘协调的突伸（通过新微丝的聚合），将新生的细胞突伸部分附着到基底，通过微管马达牵引使细胞体前进，并解除细胞与基底间的陈旧接触。

没有比神经细胞更好的例子来体现真核细胞形态方面令人赞叹的潜能了。神经细胞可能长达几毫米，带有极其复杂的树突和轴突。要经营并维持这些美丽而又无比复杂的细胞需要微管、神经丝和微丝的协调的聚合，以及数十种高度特化的分子马达的活动，从而将亚细胞组分运输到需要它们的地方。

在复杂性范围的另一端，酿酒酵母利用它的细胞骨架的可塑性在营养生长和交配中改变形状。通过基因分析，很多过程必需的分子组分从酵母中首先分离。令人非常震惊的是，研究显示大多数蛋白质同样还在包括人类的动物细胞中介导着极化和运动过程。

参考文献

一般文献

Bray D (2001) Cell Movements: From Molecules to Motility, 2nd edn. New York: Garland Publishing.

Howard J (2001) Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton. Sunderland, MA: Sinauer.

The Self-Assembly and Dynamic Structure of Cytoskeletal Filaments

Cooper JA (1987) Effects of cytochalasin and phalloidin on actin. *J. Cell Biol.* 105, 1473–1478.

Desai A & Mitchison TJ (1997) Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 83–117.

Downing KH (2000) Structural basis for the interaction of tubulin with proteins and drugs that affect microtubule dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 89–111.

Fuchs E (1996) The cytoskeleton and disease: genetic disorders of intermediate filaments. *Annu. Rev. Genet.* 30, 197–231.

Gilson PR & Beech PL (2001) Cell division protein FtsZ: running rings around bacteria, chloroplasts and mitochondria. *Res. Microbiol.* 152, 3–10.

Herrmann H & Aebi U (1998) Intermediate filament assembly: fibrillogen-

esis is driven by decisive dimer–dimer interactions. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8, 177–185.

Hill TL & Kirschner MW (1982) Subunit treadmilling of microtubules or actin in the presence of cellular barriers: possible conversion of chemical free energy into mechanical work. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 490–494.

Holmes KC, Popp D, Gebhard W & Kabsch W (1990) Atomic model of the actin filament. *Nature* 347, 44–49.

Lee MK & Cleveland DW (1996) Neuronal intermediate filaments. *Annu. Rev. Neurosci.* 19, 187–217.

Mitchison TJ (1995) Evolution of a dynamic cytoskeleton. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 349, 299–304.

Nogales E, Wolf SG & Downing KH (1998) Structure of the αβ-tubulin dimer by electron crystallography. *Nature* 391, 199–203.

Oosawa F & Asakura S (1975) Thermodynamics of the Polymerization of Protein, pp 41–55, 90–108. New York: Academic Press.

van der Bliek AM (1999) Functional diversity in the dynamin family. *Trends Cell Biol.* 9, 96–102.

How Cells Regulate Their Cytoskeletal Filaments

Bretscher A, Chambers D, Nguyen R & Reczek D (2000) ERM-Merlin and EBP50 protein families in plasma membrane organization and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 113–143.

Burridge K & Chrzanowska-Wodnicka M (1996) Focal adhesions, contractility, and signaling. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 12, 463–518.

Furukawa R & Fechheimer M (1997) The structure, function, and assembly of actin filament bundles. *Int. Rev. Cytol.* 175, 29–90.

Garcia ML & Cleveland DW (2001) Going new places using an old MAP: tau, microtubules and human neurodegenerative disease. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 41–48.

Hall A (1998) Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science* 279, 509–514.

Janmey PA (1998) The cytoskeleton and cell signaling: component localization and mechanical coupling. *Physiol. Rev.* 78, 763–781.

Machesky LM & Gould KL (1999) The Arp2/3 complex: a multifunctional actin organizer. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 117–121.

Mullins RD (2000) How WASP-family proteins and the Arp2/3 complex convert intracellular signals into cytoskeletal structures. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 91–96.

Quarmby L (2000) Cellular Samurai: katanin and the severing of microtubules. *J. Cell Sci.* 113, 2821–2827.

Sun HQ, Yamamoto M, Mejillano M & Yin HL (1999) Gelsolin, a multifunctional actin regulatory protein. *J. Biol. Chem.* 274, 33179–33182.

Troyanovsky SM (1999) Mechanism of cell–cell adhesion complex assembly. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 561–566.

Weber A (1999) Actin binding proteins that change extent and rate of actin monomer-polymer distribution by different mechanisms. *Mol. Cell. Biochem.* 190, 67–74.

Zheng Y, Wong ML, Alberts B & Mitchison T (1995) Nucleation of microtubule assembly by a γ-tubulin-containing ring complex. *Nature* 378, 578–583.

Zimmerman W, Sparks CA & Doxsey SJ (1999) Amorphous no longer: the centrosome comes into focus. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 122–128.

Molecular Motors

Amos LA & Cross RA (1997) Structure and dynamics of molecular motors. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7, 239–246.

Berg JS, Powell BC & Cheney RE (2001) A millennial myosin census. *Mol. Biol. Cell* 12, 780–794.

Cooke R (1986) The mechanism of muscle contraction. *CRC Crit. Rev. Biochem.* 21, 53–118.

Hackney DD (1996) The kinetic cycles of myosin, kinesin, and dynein. *Annu. Rev. Physiol.* 58, 731–750.

Hirokawa N, Noda Y & Okada Y (1998) Kinesin and dynein superfamily proteins in organelle transport and cell division. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 60–73.

Holmes KC (1997) The swinging lever-arm hypothesis of muscle contraction. *Curr. Biol.* 7, R112–R118.

Howard J (1997) Molecular motors: structural adaptations to cellular functions. *Nature* 389, 561–567.

Kamal A & Goldstein LS (2000) Connecting vesicle transport to the cytoskeleton. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 503–508.

Porter ME (1996) Axonemal dyneins: assembly, organization, and regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8, 10–17.

Reilein AR, Rogers SL, Tuma MC & Gelfand VI (2001) Regulation of molecular motor proteins. *Int. Rev. Cytol.* 204, 179–238.

Squire JM & Morris EP (1998) A new look at thin filament regulation in vertebrate skeletal muscle. *FASEB J.* 12, 761–771.

Vale RD & Milligan RA (2000) The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins. *Science* 288, 88–95.

Vikstrom KL & Leinwand LA (1996) Contractile protein mutations and heart disease. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8, 97–105.

The Cytoskeleton and Cell Behavior

Abercrombie M (1980) The crawling movement of metazoan cells. *Proc. Roy. Soc. B* 207, 129–147.

Baas PW (1998) The role of motor proteins in establishing the microtubule arrays of axons and dendrites. *J. Chem. Neuroanat.* 14, 175–180.

Condeelis J (1993) Life at the leading edge: the formation of cell protrusions. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9, 411–444.

Devreotes PN & Zigmond SH (1988) Chemotaxis in eukaryotic cells: a focus on leukocytes and Dictyostelium. *Annu. Rev. Cell Biol.* 4, 649–686.

Drubin DG & Nelson WJ (1996) Origins of cell polarity. *Cell* 84, 335–344.

Harris AK, Wild P & Stopak D (1980) Silicone rubber substrata: a new wrinkle in the study of cell locomotion. *Science* 208, 177–179.

Heath JP & Holifield BF (1991) Cell locomotion: new research tests old ideas on membrane and cytoskeletal flow. *Cell Motil. Cytoskeleton* 18, 245–257.

Madden K & Snyder M (1998) Cell polarity and morphogenesis in budding yeast. *Annu. Rev. Microbiol.* 52, 687–744.

Nasmyth K & Jansen RP (1997) The cytoskeleton in mRNA localization and cell differentiation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 396–400.

Pantaloni D, Le Clainche C & Carlier MF (2001) Mechanism of actin-based motility. *Science* 292, 1502–1506.

Parent CA & Devreotes PN (1999) A cell's sense of direction. *Science* 284, 765–770.

Suter DM & Forscher P (2000) Substrate-cytoskeletal coupling as a mechanism for the regulation of growth cone motility and guidance. *J. Neurobiol.* 44, 97–113.

Svitkina TM & Borisy GG (1999) Arp2/3 complex and actin depolymerizing factor/cofilin in dendritic organization and treadmilling of actin filament array in lamellipodia. *J. Cell Biol.* 145, 1009–1026.

17　细胞周期与程序性细胞死亡

细胞周期概述
细胞周期控制系统元件
细胞内的细胞周期事件控制
程序性细胞死亡（细胞凋亡）
胞外的环境控制细胞的分裂、生长和凋亡

“正如动物只能来源于动物，植物只能来源于植物一样，一个新细胞的产生必须以一个前代细胞的存在为前提”，1858 年，德国病理学家 Rudolf Virchow 创立的这个细胞学说赋予生命延续以深远的含义。细胞来源于细胞，而现存细胞的分裂则是产生更多细胞的唯一途径。自 30 亿年前地球出现生命开始，从单细胞的细菌到多细胞的人类，所有生物都是由定期重复的细胞生长和分裂循环产生的。

细胞通过一系列程序性事件复制自身元件并分裂成两个细胞而完成增殖。细胞的复制和分裂即细胞周期过程。这个被称为**细胞周期**的复制和分裂过程是所有生物赖以生殖的重要机制。对于类似细菌和酵母的单细胞物种，每个细胞分裂后都产生一个完整的新机体。多细胞物种则需要通过长期和复杂有序的细胞分裂产生一个功能有机体。即使在成年个体内，也经常需要细胞分裂替代死亡的细胞。事实上，为了生存，所有人每时每刻都需要制造无数个细胞，例如，如果我们暴露于大剂量的 X 射线中的话，短短几天时间里都将难逃死亡。

根据机体和所在生活周期的阶段的不同，细胞周期具有不同的特征。但是某些特征却是相同的。细胞必须至少进行一系列过程以完成其最基本的职责：将遗传信息传递到下一代细胞。为了产生两个遗传学相同的子细胞，每条染色体上的 DNA 必须首先被正确的复制产生两个完整的拷贝，然后复制好的染色体必须被精确的分配（分离）到两个子细胞中，这样每个细胞才会得到一个完整的基因组（图 17-1）。

通过进化，真核细胞获得了一个复杂的调控蛋白网络控制细胞周期进程，该系统被称为**细胞周期控制系统**。这套系统的核心是一系列控制细胞周期重要事件的生化开关，包括 DNA 复制和复制后染色体的分离。大部分细胞内会有其他的调控，这会提高细胞分裂的保真度并使调控系统能够对细胞内部和外界的各种信号做出反应。在细胞内，控制系统会监测细胞循环的进程并在前期事件完成前延迟后期事件。例如，除非细胞已经完成 DNA 的复制，否则复制的染色体将不会被允许准备分离。控制系统同时还会监测细胞的外部条件。在多细胞动物内，该系统对其他细胞的信号高度灵敏，在需要更多细胞的时候就刺激细胞分裂，不需要的时候就不刺激分裂。这样在控制机体组织的细胞数量上，细胞周期控制系统起着关键作用。当该系统功能失常时，细胞的过度分裂会导致癌症的发生。

除了复制自身的基因组，大部分细胞还复制自己的其他细胞器和大分子；如若不然，每次分裂都会使细胞变小。分裂细胞为了保持其尺寸，必须使它们的生长（如细胞重量的增加）和分裂相协调，但是到目前为止，我们仍不清楚这种协调是如何完成的。

这一章我们主要关注如何控制和协调细胞周期中的各个事件。首先，我们会先对此进行

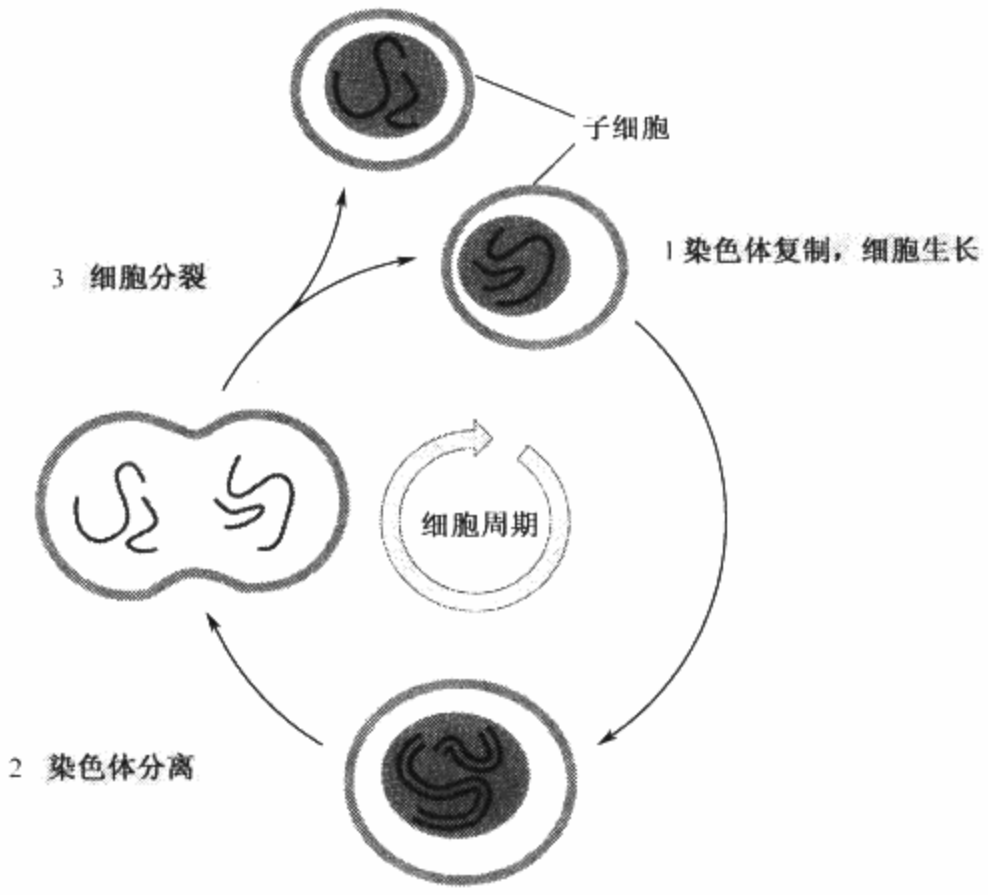


图 17-1　细胞周期

假定具有两个染色体的细胞的分裂过程，用以说明每个周期内如何产生两个遗传型相同的子细胞。每个子细胞常常会通过另外的细胞周期进行分裂

简单概述，具体的分子细节将会在其他章节讨论（第 5 章 DNA 复制，第 18 章染色体的分离和细胞分裂）。然后我们将介绍细胞周期控制系统，讨论该系统如何控制细胞周期事件的发生顺序，并对内部信号做出反应调控细胞分裂。之后，我们将讨论多细胞机体如何通过程序性细胞死亡或者细胞凋亡进程清除不需要的细胞。如果机体利益需要，在该过程中细胞将进行自杀灭亡。最后，我们会探讨动物如何利用外源信号控制细胞生存、细胞生长和细胞分裂，从而调控细胞数量和细胞大小。

细胞周期概述

细胞周期的最基本功能就是准确复制染色体上的大量 DNA，然后将拷贝精确地分离到两个遗传型相同的子细胞中。这个过程描述了细胞周期的两个重要时期。DNA 复制发生在 S 期（S 代表合成，synthesis），S 期需要 10～12h，占典型哺乳动物细胞周期一半的时间。在 S 期之后，染色体分离和细胞分裂发生在 M 期（M 代表有丝分裂，mitosis），M 期需要非常短的时间（哺乳动物细胞不超过 1h）。M 期包括从细胞核分裂或者有丝分裂开始的一系列重要事件。正如在第 18 章描述的那样，有丝分裂从染色体的浓缩开始：复制好的 DNA 链包装形成细长的染色体，然后浓缩形成分离所需的更紧凑的染色体。之后，核膜破裂，复制好的包含一对姐妹染色单体的染色体粘连到有丝分裂纺锤体的微管上。随着有丝分裂的发生，细胞会在一个称为中期（metaphase）的时期短暂停滞，这时，染色体会在有丝分裂纺锤体的赤道板上排列，停滞等待分离。姐妹染色单体的突然分离标志着后期（anaphase）的开始，其间，染色体会向纺锤体的相反两极移动，在那里，染色体开始去浓缩并重建独立的细胞核。之后，细胞通过细胞质分离或者胞质分裂（cytokinesis）分开形成两个细胞，这样，细胞分裂就完成了（图 17-2）。

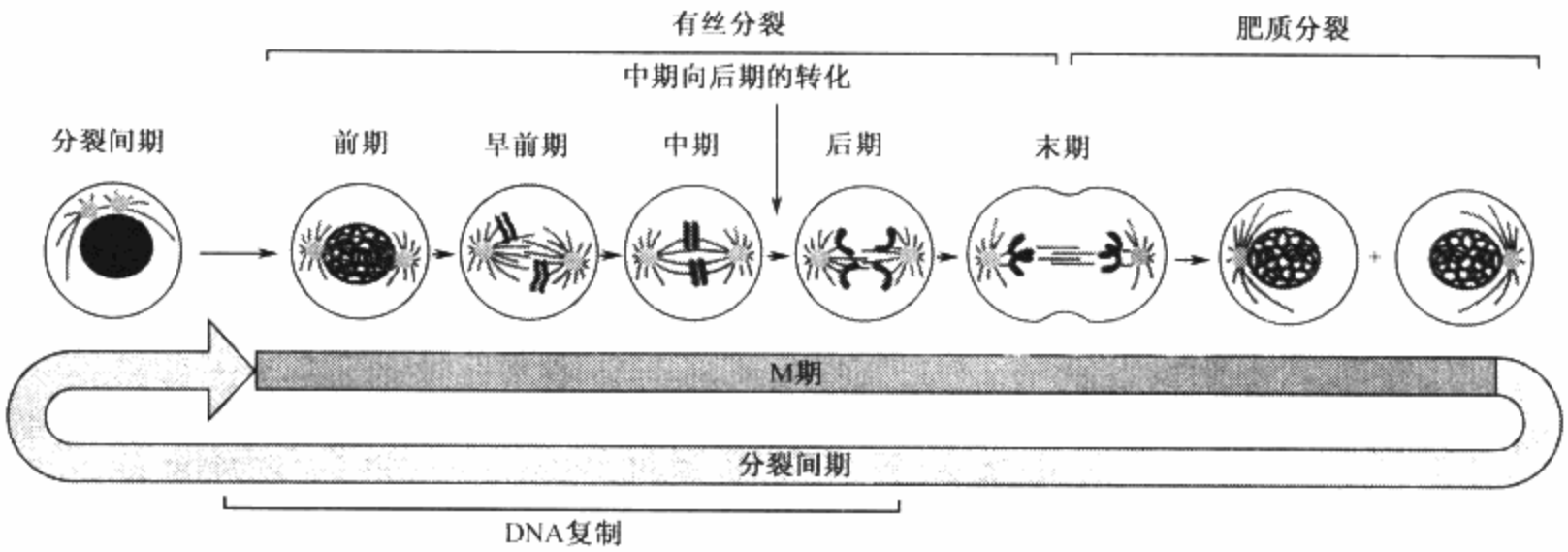


图 17-2　显微镜下的细胞分裂事件

容易观察到的细胞核分裂（有丝分裂）和细胞分离（胞质分离）统称为 M 期，一般仅占细胞周期的很少一部分。细胞周期的其余更长一段时期叫做分裂间期。有丝分裂的 5 个时期如图：生化水平的突然变化发生在从中期到后期转变时。在转换点前细胞可以在中期暂停，但一旦通过转换点细胞就会一直向前到有丝分裂终点，并通过胞质分裂进入间期。DNA 进行复制的间期被称为 S 期（未列出）

与复制自身 DNA 和完成分裂相比，大部分细胞需要更长的时间生长并复制大量的蛋白质和细胞器。在大部分细胞周期内存在间隔期（gap phase）——在 M 期与 S 期之间的 **G_1 期**和 S 期与有丝分裂期之间的 **G_2 期**，这在一定程度上是为了让细胞获得更长的生长时间。这样习惯上将真核细胞周期分为 4 个时期：G_1、S、G_2 和 M（图 17-3）。G_1、S 和 G_2 合起来称为分裂间期（interphase）。典型的人类细胞培养增殖过程中，分裂间期可以占 24h 细胞周期的 23h，剩下的 1h 为 M 期。

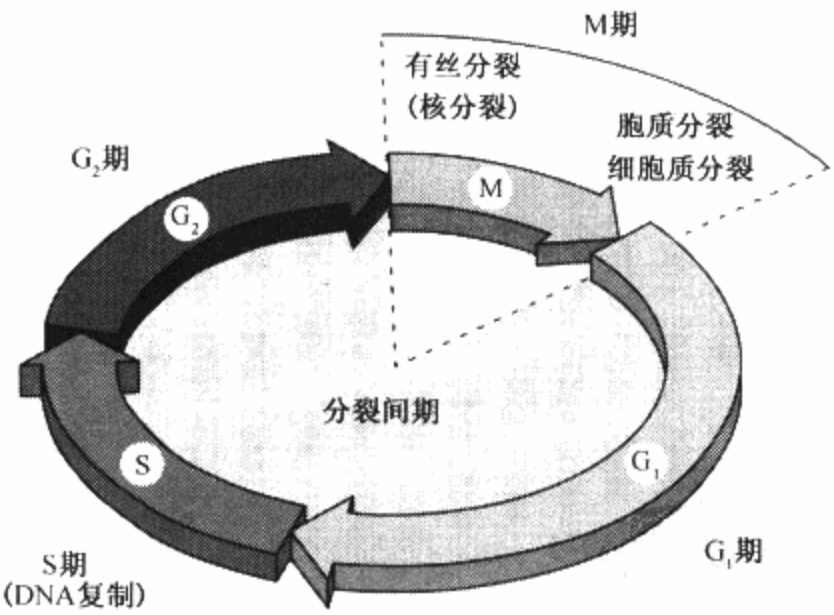


图 17-3　细胞周期的不同时期

细胞在分裂间期不断生长，这包括三个阶段：DNA 复制被限定在 S 期，G_1 期是介于 M 期和 S 期之间的时间间隔，而 G_2 期是介于 S 期和 M 期的时间间隔。在 M 期，细胞核和细胞质先后分裂。

这两个分裂间期不单纯只是为了利于细胞生长而进行的时间的延长。它们还保证细胞在允许自身进入主要剧变的 S 期和有丝分裂期之前，有时间监测内部和外源环境的变化以保证条件适合并完成准备工作。在这方面 G_1 期尤为重要。其长短可根据外部条件和来自其他细胞的胞外信号发生变化。如果外部条件不适合，细胞将延迟通过 G_1 期甚至会进入一个特殊的被称为 G_0 期（G zero）的静止期。这个时期在细胞重启生殖之前可以维持数天、数周甚至数年。实际上，许多细胞会在它们或者机体死亡之前一直保持 G_0 状态。如果外部条件适合并

且出现了生长和分裂信号，早 G_1 期或者 G_0 期的细胞将可以通过靠近 G_1 期晚期的一个特定位点。这个特定位点在酵母中被称为**起始点**（Start），在哺乳动物细胞内则可被称为**限制点**（restriction point）。通过这个位点后，即使除去刺激细胞生长和分裂的外部信号，细胞仍会被允许进行 DNA 复制。

在所有真核生物中，细胞周期控制系统都是相似的

即使在同一机体内，不同类型细胞的一些细胞周期特征（包括完成某一特定事件所需的时间）差别也会很大。但是在所有真核细胞内，细胞周期的基本组分和控制系统却基本相同。控制系统中的蛋白质在数百万年前已经出现。在进化的过程中，这类蛋白质非常保守，以至于在从人类细胞转移到酵母细胞后，这些蛋白质中的大部分成分仍可以正确行使功能。这样，我们可以在一系列不同的机体中研究细胞周期和细胞周期调控，然后利用所有的发现汇总出一个模型说明真核细胞如何分裂。在下面的章节中，我们简要讨论一下三种经常用于研究细胞周期调控的真核系统——酵母、爪蟾卵母细胞和培养的哺乳动物细胞。

在酵母中细胞周期控制系统可以进行详细的遗传学研究

酵母是微小的单细胞真菌，其细胞周期调控机制与我们自身的机制非常类似。人们通常利用两类酵母研究细胞周期。**粟酒裂殖酵母**（*Schizosaccharomyces pombe*）之所以称为裂殖酵母，是因为人们用它酿造非洲啤酒。其细胞为棒状［图 17-4（A）］，向末端延伸生长。通过在棒状结构的中部形成隔膜或者细胞板（cell plate）进行分裂。啤酒酿造师和面包师使用的酵母则主要是**芽殖酵母**（*Saccharomyces cerevisiae*）。其细胞为卵圆形，通过出芽进行分

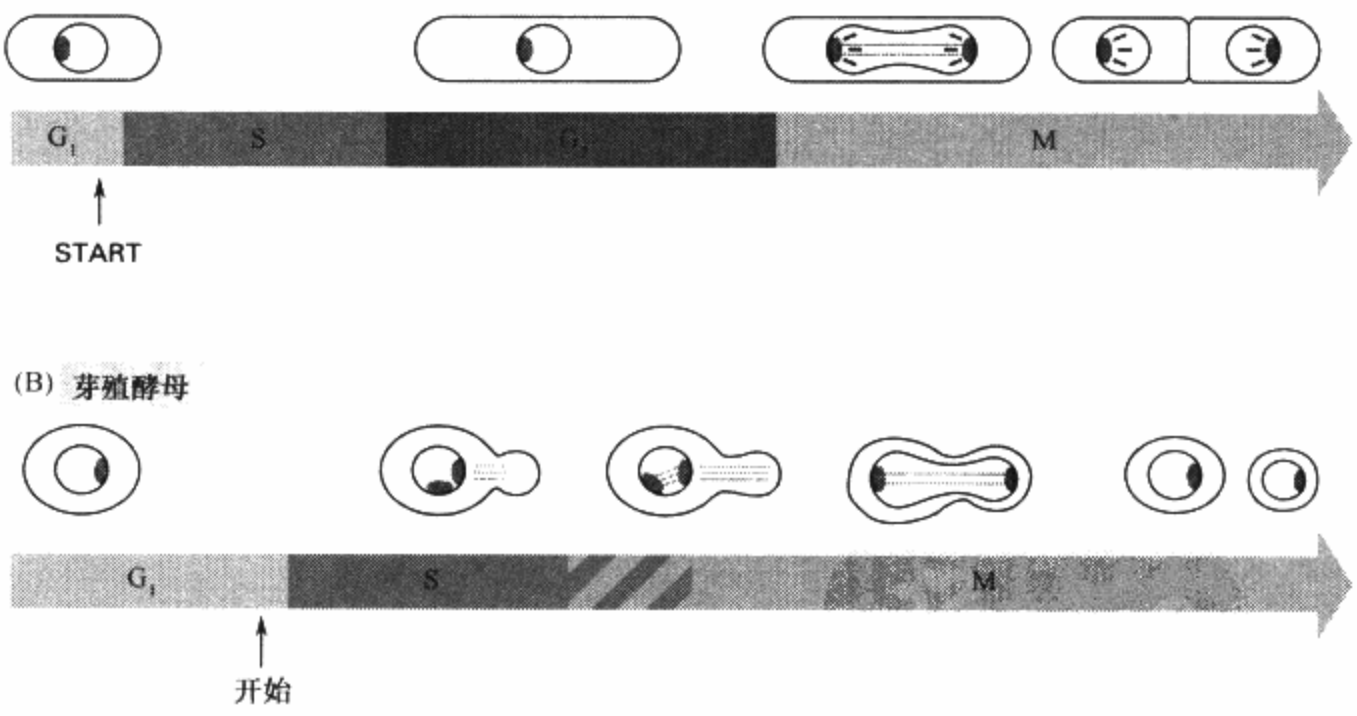


图 17-4　裂殖酵母和芽殖酵母的细胞周期比较

（A）裂殖酵母具有一个包含 G_1、S、G_2 和 M 期的典型真核细胞周期。但是与较高等的真核细胞相比，在 M 期，裂殖酵母细胞核膜不发生破裂。在细胞核内形成有丝分裂纺锤体微管（浅绿色）并粘连到纺锤体极点上（深绿色）。细胞通过形成隔膜（被称为细胞板）分裂成两个细胞。在裂殖酵母中很容易观察到有丝分裂时期高度浓缩的染色体。但是在芽殖酵母中却不容易观察到这样的染色体。（B）芽殖酵母有正常的 G_1 期和 S 期，但没有正常的 G_2 期。因而在 S 期这个较早的细胞周期内就开始在核内形成由微管构成的纺锤体。与裂殖酵母相比，它们靠出芽的方式进行细胞分裂。与高等真核生物不同，裂殖酵母在核内形成纺锤体，在细胞有丝分裂期，其核膜仍然是完整的

裂。芽体在 G_1 期出现并不断生长，到有丝分裂期后从母体分裂出来［图 17-4（B)］。

尽管存有显著差异，这两类酵母还是有一些对遗传研究非常有益的共同之处。它们可以像细菌一样快速复制，同时，其基因组大小不到人类的 1%。它们可以很方便的进行快速分子遗传学操作，包括基因缺失、替换或者改变。尤其重要的是，它们具有独特的在单倍体（haploid）阶段增殖的能力，此时，在细胞内每个基因仅有一个拷贝。单倍体细胞使我们很容易分离获得并研究某个基因失活之后的突变体，因为这样可以避开细胞内该基因的第二个拷贝造成的麻烦。

在酵母中，对编码细胞周期控制系统中重要元件的基因进行失活处理，然后对该突变体进行系统研究，使人们获得了许多与细胞周期调控相关的重要发现。受这类突变体影响的基因被称为**细胞分裂周期基因（cell-division-cycle gene，或者 *cdc* 基因）**。许多这类突变体引起细胞在细胞周期的一个特殊位点停滞，这说明细胞需要有这些基因的正常产物才能通过这个位点。

不能完成细胞周期的突变体是不能繁殖的。因而，对于 cdc 突变体来说，只有在其表型是可以控制的情况下，它们才可以被用来筛选和维持，也就是说，只有在某些特殊的条件下，这些基因的产物才会失活。大部分情况下，细胞周期突变体是温度敏感型突变体——在高温情况下蛋白质功能是失活的，但是在低温情况下，蛋白质可以正常行使功能使细胞得以分裂。温度敏感型突变体可以在低温情况下（允许条件，permissive condition）进行增殖，之后提升到高温条件（限制条件，restrictive condition）关闭突变基因的功能。在高温情况下，细胞将继续执行细胞周期，直到它们到达需要突变基因行使功能时才能进入到下一步的某个点（图 17-5）。在芽殖酵母内，通过观察此类相同的细胞周期停滞就可以检测是否有芽体的出现，芽体的大小将表明突变体在细胞周期的哪个位点被阻断（图 17-6）。

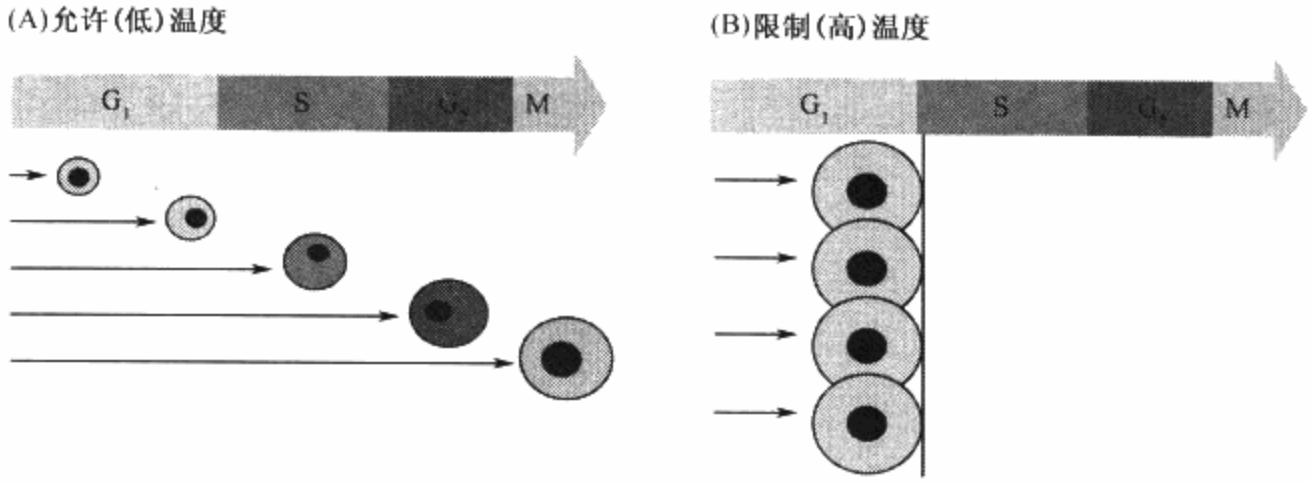


图 17-5　温度敏感型 cdc 突变体行为

（A）在允许温度（低温）下，细胞正常分裂，可以看到处于细胞周期各个阶段的细胞（细胞的颜色代表其所处的时期）。（B）当升温到限制温度（高温）时，突变基因产物功能异常，突变体细胞继续进行细胞周期直到到达一个它们无法通过的点为止（在本例图里，指的是 S 期）。由于 cdc 突变体仍旧不断生长，它们会变得异常的大。对于非 cdc 突变体，如果突变位于细胞周期中生物合成和生长（如 ATP 的合成）位置，那么细胞停滞会在任意时间出现，这依赖于生化储备何时用尽（未列出）

在动物胚胎细胞中可以进行细胞周期调控的生化分析

酵母确实是在遗传学上研究细胞周期的理想工具，但细胞周期的生化研究却更易于在许多动物巨大的受精卵细胞中完成，因为这些细胞储备有大量的细胞分裂所需蛋白质。例如，非洲爪蟾卵细胞的直径就超过 1mm，同时含有细胞质的量要比正常人体细胞多 100 000 倍以上（图 17-7）。非洲爪蟾卵细胞受精后会引发一种以惊人速度进行的快速细胞分裂，被称为卵

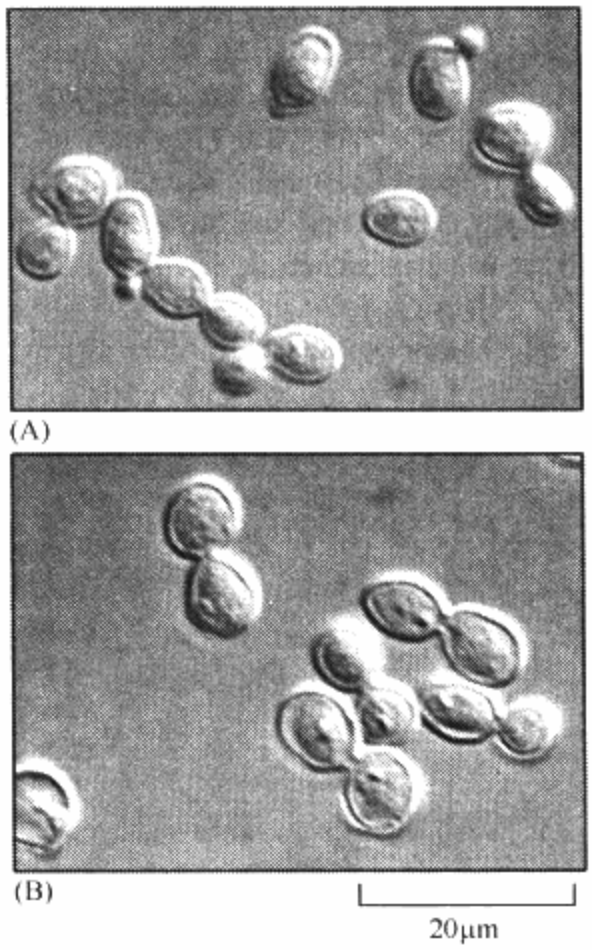


图 17-6　因 cdc 突变而被阻断分裂的芽殖酵母形态学观察

（A）在一个正常酵母种群细胞中，芽体大小随着所处细胞周期的阶段不同而不同。（B）当 cdc15 突变体在限制温度下生长时，细胞可以通过细胞分裂后期但是却无法完成有丝分裂和胞质分裂。结果是它们都在有一个大的芽体的情况下被阻滞，这是细胞处于 M 期的特征（经 Jeff Ubersax 许可）

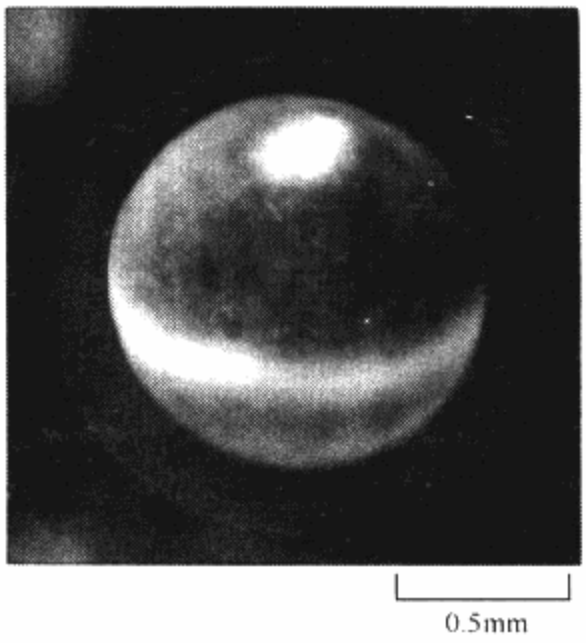


图 17-7　一个处于可受精状态的非洲爪蟾成熟卵细胞

顶部的灰白色斑点是核的位置，卵细胞细胞质的表层其他地方是褐色的色素。卵成熟过程中，核膜会发生降解，但我们无法在这张照片中观察到（经 Tony Mills 许可）

裂分裂（cleavage division），在这种分裂中，单个巨大细胞不用生长就直接分裂产生一个包含数千小细胞的胚胎（图 17-8）。在这个过程中，唯一需要合成的大分子是用于产生数千新细胞核的 DNA 以及非常少量的一些蛋白质。在第一次分裂发生后大约 90min 内，会以大约 30min 一次的频率完成后续的 11 次分裂，在 7h 内产生大概 4096（2^{12}）个细胞。每个周期都被分为 S 期和 M 期，两者各占 15min，检测不到 G_1 期和 G_2 期的存在。

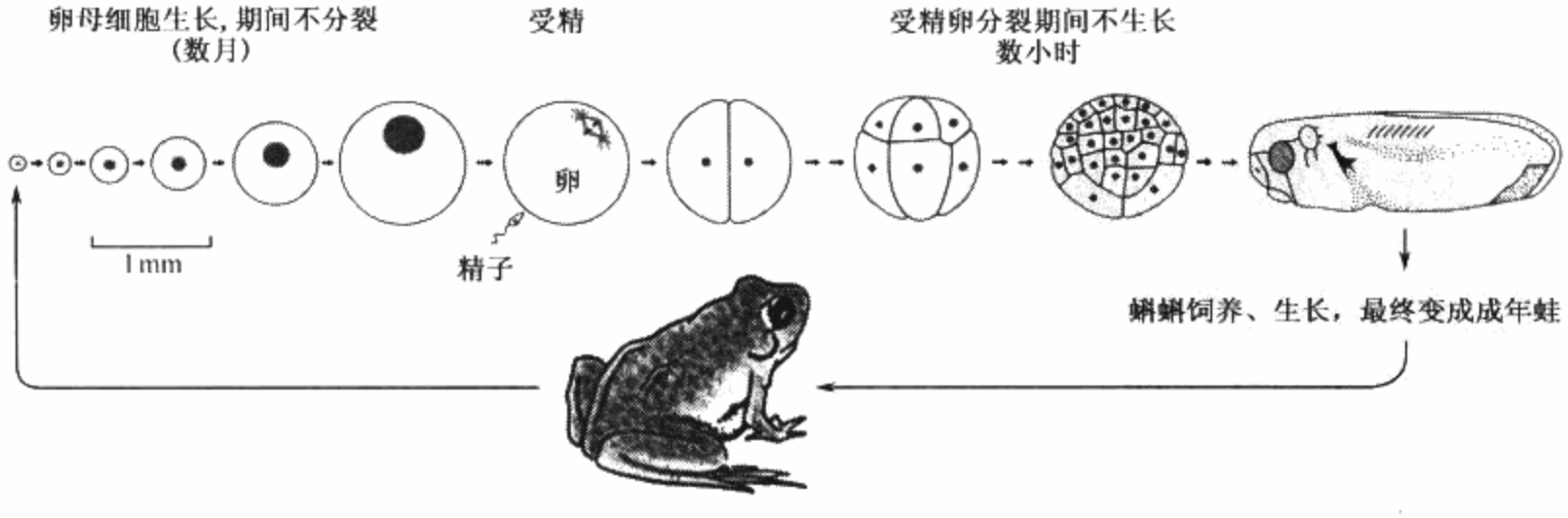


图 17-8　非洲爪蟾中卵母细胞的生长和卵的分裂

在母体非洲爪蟾的卵巢内，卵母细胞在最终成熟前需要生长数月而不进行分裂。一旦完成受精，卵细胞会快速进行分裂，一开始在 1～2 天内以 30min 一次的速度进行分裂，形成一个多细胞蝌蚪。每次分裂后，细胞的体积都会变小，但是胚胎的体积却不发生变化。直到蝌蚪开始进食后才开始生长。上面一行各图的大小都相同（下面的爪蟾除外）

非洲爪蟾早期胚胎以及蛤蜊（*spisula*）和果蝇（*Drosophila*）中的细胞可以在不进行生长或者缺乏在其他比较复杂的细胞周期中起作用的许多控制系统的情况下快速分裂。这样，这些早期胚胎细胞周期（early embryonic cell cycle）揭示了细胞周期控制系统的最基本工作模式，以最小需求完成最基本需要——基因组的复制和分离到两个子细胞中。利用早期胚胎细胞研究细胞周期的另外一个优点是这类细胞有较大的尺寸。这样相对来说，将研究物质注入卵细胞研究它们在细胞周期过程中的作用就比较容易。由此，我们也可以从爪蟾卵细胞中提取细胞质，在试管中重建细胞周期中的许多事件（图 17-9）。在这类细胞提取物中，研究人员可以在非常简单可控的条件下观察和控制细胞周期事件。

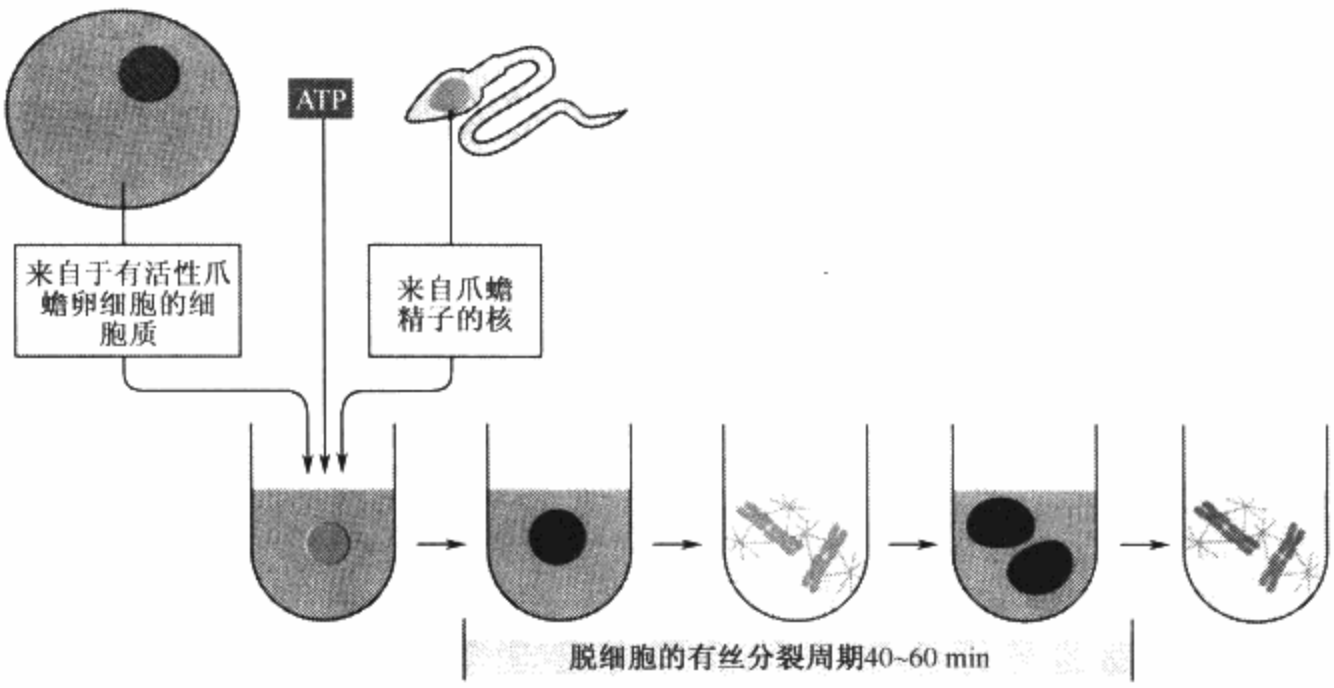


图 17-9　无细胞系统内研究细胞周期

温和离心破裂一大批被激活的爪蟾卵细胞，同时使细胞质和其他细胞元件分离。收集未稀释的细胞质同时加入精细胞细胞核和 ATP。精细胞的细胞核会解凝聚之后进行重复的 DNA 复制和有丝分裂，表明在无细胞的细胞质提取物中可以进行细胞周期调控

利用培养细胞研究哺乳动物细胞的细胞周期调控

在完整的哺乳动物中观察个体细胞不太容易。因此，大部分关于哺乳动物细胞周期调控方面的研究都是通过培养细胞完成的，这些细胞分离自普通组织或者肿瘤，在含有主要营养物和其他因子的塑料盘内培养（图 17-10）。但是这里存在一个问题。当在标准条件下培养来自于普通组织的细胞时，这些细胞会在有限的几次分裂周期后停止分裂。例如，人类的成纤维细胞在分裂 25～40 次后就会保持分裂停滞，这个过程被称为复制性细胞衰老 replicative cell senescence，这个现象我们将在后面介绍。

某些哺乳动物细胞会偶然发生突变，培养时很方便并可以无限地增殖，这被称为无限增殖细胞系。虽然这些细胞系不太正常，但是它们仍被广泛用于细胞周期的研究以及普通细胞生物学的研究，因为这些细胞可以无限提供遗

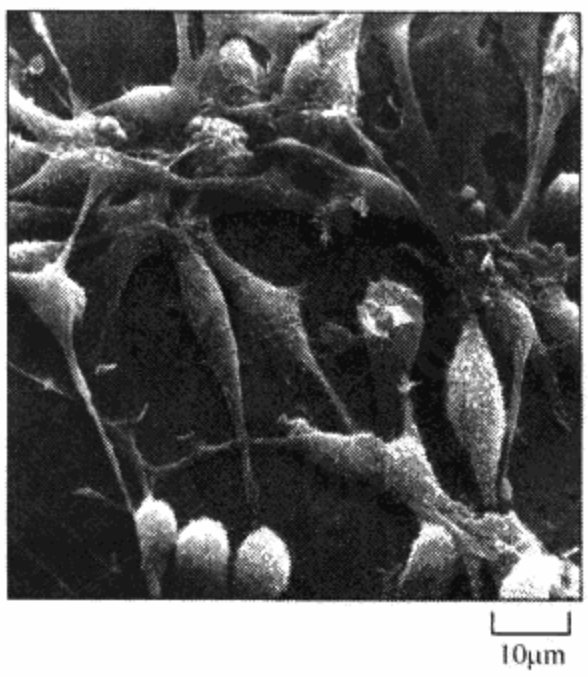


图 17-10　培养状态下的哺乳动物细胞的增殖

扫描电子显微镜照片中的这些细胞是成纤维细胞

（经 Guenter Albrecht-Buehler 许可）

传学相同的细胞。另外，这些细胞的尺寸还足够进行细胞周期事件细节的细胞学观察，同时，它们还便于对细胞周期所涉及的蛋白质进行生化分析。

研究培养的哺乳动物细胞，对研究多细胞机体中细胞增殖的分子调控机制尤其重要。这些研究不但对了解组织如何对细胞的数量进行普通控制非常重要，还有助于了解在肿瘤中是如何失去这些控制的（第 23 章讨论）。

可以通过各种方法研究细胞周期进程

如何判断一个细胞处于细胞周期中的什么阶段？一种方法是在显微镜下简单观察活体细胞。对繁殖培养的哺乳动物细胞群进行观察会发现，部分细胞呈凸起状态而处于有丝分裂期。还可以观察到其他一些处于胞质分裂阶段的细胞。不过，简单的观察无法发现 S 期细胞。但是如果给细胞供给可以加入到新合成 DNA 中的可见分子（如 H^3 标记的胸腺嘧啶或者 BrdU）的话，这些细胞就可以被识别。可以通过自显影观察到含有 H^3 胸腺嘧啶的细胞核[图 17-11（A）]，但对于渗入 BrdU 的细胞核则只可以通过抗-BrdU 的抗体染色观察[图 17-11（B）]。

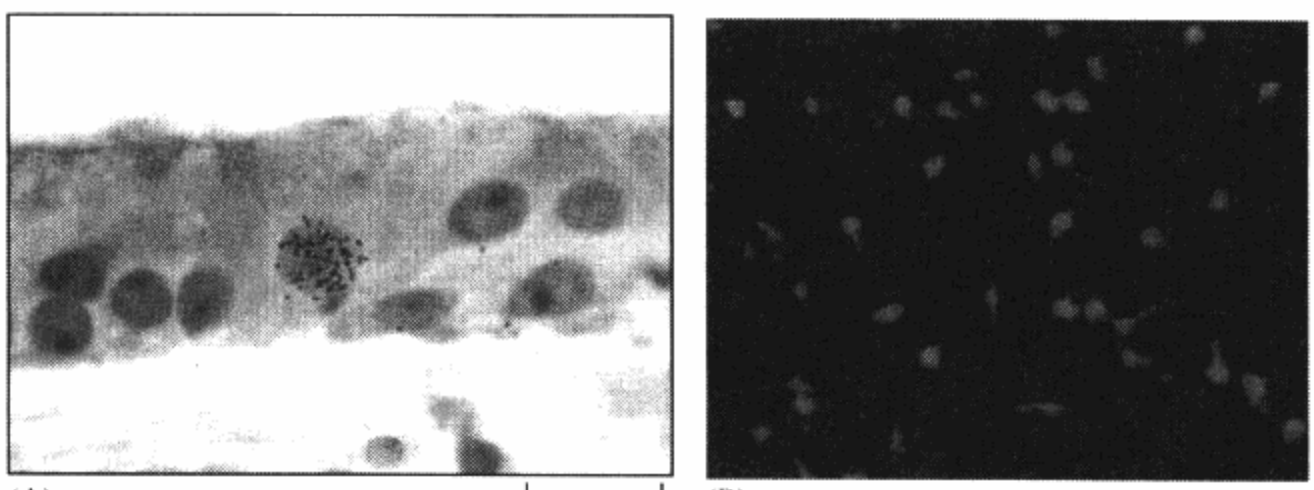


图 17-11　S 期细胞的标记

（A）材料短时间暴露于 H^3 标记的胸腺嘧啶，通过自显影可以观察到标记细胞。感光胶片上细胞核内的银颗粒（黑色斑点）表明细胞的 DNA 中渗入了 H^3 标记的胸腺嘧啶，这说明在标记的某段时间细胞处于 S 期。这个标本显示的是鸡的内耳感觉上皮组织，S 期细胞的出现表明作为对发生细胞损伤的反应，细胞发生了增殖。（B）BrdU 标记的神经角质前体细胞免疫荧光显微照片。将细胞暴露在 BrdU 中 4h 后进行固定并用抗 BrdU 的荧光素抗体进行标记（红色）。用蓝色荧光染料染色所有的细胞（A，经 MarkWarchol 于 Jeffrey Corwin 许可。B，D. Tang，Tokumoto. and M. Raff. *J. Cell. Biol.* 148：971～984，2000@The Rockefeller University Press）

一般情况下，在一个正在快速增殖但不处于同一时期的细胞系中，在任何时候都有 30%～40%的细胞处于 S 期，因而会被 H^3 胸腺嘧啶或者 BrdU 标记。根据这样一个细胞系中被标记细胞所占的比例（标记指数，labeling index），我们可以估计在整个细胞周期持续时间中 S 期持续时间所占的比例。与此相似，通过处于有丝分裂期细胞所占的比例（有丝分裂期指数，mitotic index），我们也可以估计 M 期持续时间所占的比例。另外，通过间断给予 H^3-胸腺嘧啶和 BruD，使细胞持续完成细胞周期进行时间测量，我们可以测定一个 S 期细胞从 G_2 期到 M 期、从 M 期到 G_1 期以及最后从 G_1 期返回 S 期所需的时间。

另外一种判定细胞到达细胞周期中哪个位置的方法是测定 DNA 浓度，DNA 浓度在 S 期会加倍。结合使用 DNA 的荧光染料和流式细胞仪使这种方法非常便于操作，这样可以对大

批细胞进行快速自动操作（图 17-12）。我们也可以利用流式细胞仪判定 G_1、S 和（G_2+M）期的持续时间，这可以通过长时间观察经过预筛选处于细胞周期上同一特殊时期的细胞群完成。通过对这样一个同步细胞群 DNA 浓度的测定可以揭示这种细胞如何完成细胞周期。

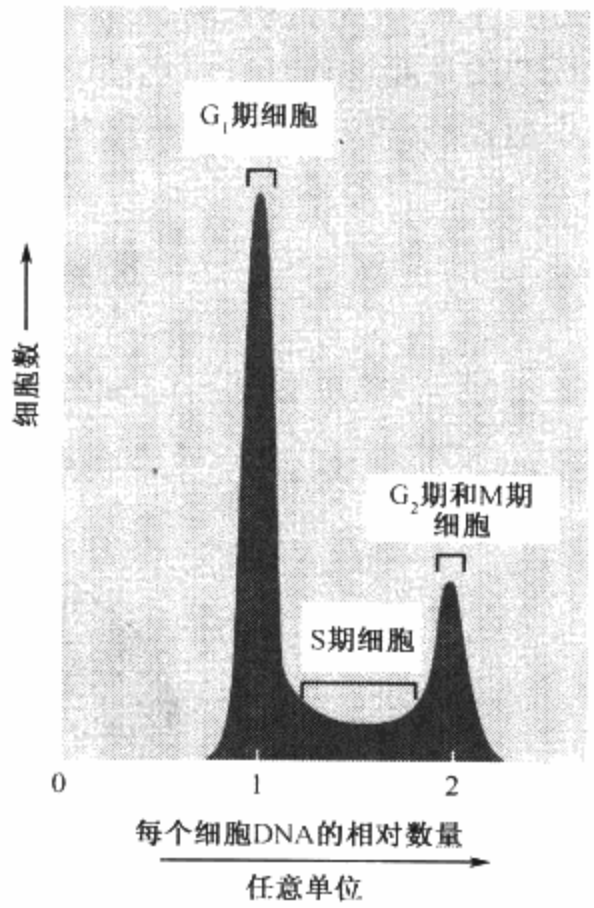


图 17-12　利用流式细胞仪分析 DNA 浓度

这是一张通过流式细胞仪测定增生细胞群中个体细胞 DNA 浓度的范例照片（流式细胞仪也叫做荧光激活细胞筛选仪或者 FACS，也可以用于通过荧光筛选细胞，见图 8-2）。这里利用一种结合 DNA 后自发荧光的染料对分析细胞进行染色，这样，每一个细胞中荧光的量直接代表着 DNA 的量。细胞被分为三类：含有未复制 DNA 的细胞处于 G_1 期，含有完成复制 DNA（G_1 期细胞 DNA 浓度的 2 倍）的细胞处于 G_2 期或者 M 期，含有中间 DNA 浓度的细胞处于 S 期。这张图片显示，处于 G_1 期的细胞要比（G_2+M）期的细胞多，这说明这个细胞群的 G_1 期要比（G_2+M）期长

小结

细胞进行繁殖时，首先复制细胞元件，之后将这些元件分配到两个子细胞中。染色体的复制发生在细胞周期的 S 期，而其他细胞元件则在整个细胞周期中持续进行复制。在 M 期，复制好的染色体被分离到两个独立的细胞核中（有丝分裂），之后细胞分裂成两个（胞质分裂）。S 期和 M 期经常会被称为 G_1 期和 G_2 期的两个间期分开，在这两个间期中，细胞周期进程可以被各种胞内或者胞外信号调控。在进化过程中，细胞周期的组分和控制高度保守，因而综合包括酵母、非洲爪蟾卵细胞和培养的哺乳动物细胞在内的多种体系的研究，可以得到一个统一的真核细胞周期控制的结论。

细胞周期控制系统元件

许多年来，细胞生物学家一直在观看着 DNA 合成、有丝分裂以及细胞质分裂这个木偶剧，但是却对幕帘之后隐藏的这些事件的控制系统毫无概念。细胞内的细胞周期控制系统完全是一个黑箱。人们甚至不清楚是否存有一个独立的控制系统，或者是否 DNA 合成、有丝分裂和胞质分裂这些进程是受它们自身控制的。主要的突破发生在 1980 年，那一年人们发现了控制系统的一个关键蛋白质，这才认识到这些控制蛋白与进行 DNA 合成、染色体分离等功能的蛋白质是不同的。

我们首先讨论细胞周期控制工作的基本原理。之后，我们将讨论系统里的蛋白质元件以及它们如何一起激活细胞周期的不同阶段。

细胞周期控制系统激活细胞周期中的主要进程

细胞周期的控制系统和自动洗衣机的控制系统非常相像。洗衣机通过一系列步骤完成其功能：注水、混合洗衣粉、洗衣、冲洗之后旋转甩干。洗衣服循环周期的这些重要进程与细胞周期的重要进程具有可比性——DNA 复制、有丝分裂以及其他。在这两个事件里，都由一个中枢控制器按固定的顺序激活每一个进程（图 17-13）。

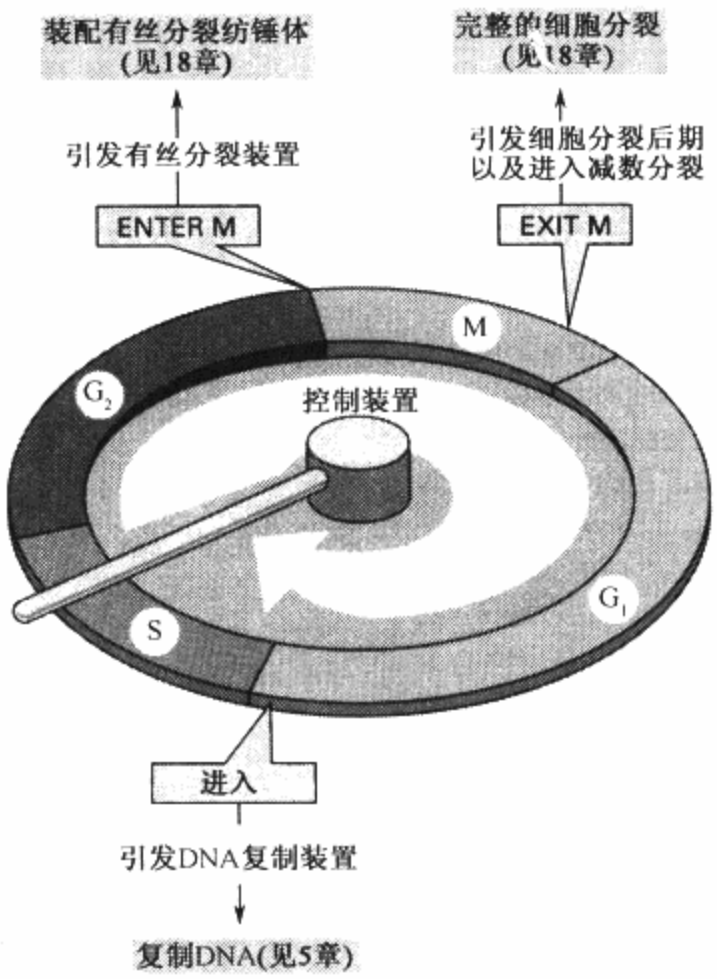


图 17-13　细胞周期的控制

细胞周期的重要进程（如 DNA 复制、有丝分裂和细胞质分裂）都由一个细胞周期控制系统激活

怎样才能设计一个可以指导细胞安全完成细胞周期中这些事件的控制系统（或者一个洗衣循环）？理论上，我们可以想像最基本的控制系统应该包括以下特征：

一个时钟或者定时器，可以在特定时间开启每个事件，这样为完成每个事件提供一个固定的时间段；

一个以正确顺序起始事件的机制，如进入有丝分裂期必须发生在 DNA 复制完成后；

保证在一个周期中每个事件只发生一次的机制；

以完整不可逆方式启动事件的双元开关（开、关）。很明显，有些事件会是灾难性的，如虽然启动了染色体浓缩或者核膜裂解但是却无法完成。

严谨性：具有备份机制，保证在系统部分功能失活的情况下细胞周期仍能正确工作；

适应性：可以修饰系统调节以适应特定的细胞类型或者环境条件；

在这一节我们将看到细胞周期控制系统具有所有这些特点，并且我们现在正在开始认识这里面所包含的分子机制。

控制系统可以在特殊的检测点阻滞细胞周期

我们可以通过延伸我们的洗衣机模型分析来阐述可调节细胞周期控制系统的重要性。正如一个简单的洗衣机控制器一样，简单的胚胎细胞周期控制系统的基础元件也是一个时钟。时钟不受其调控事件的影响，而且即使整个事件中的一个事件没有成功完成，时钟仍将走完整个连续事件过程。相比而言，大多数细胞周期控制系统（以及复杂的洗衣机）是会对其所控制进程的反馈信息做出反应的。例如，传感器可以感知 DNA 合成是否完成（或者洗衣机内注水是否完成），而且，如果一些功能失常阻断了这个过程的完成的话，信息会被传送到控制系统而延迟进入下一个阶段的进程。这些延迟将为机制修复提供时间，同时还阻止由周期进程提前进入下一个阶段所可能带来的灾难性后果。

在大部分细胞里，细胞周期有几个称为**检测点（checkpoint）**的特定点，如果前一个事件没有完成细胞周期就会在这里被阻断（图 17-14）。例如，如果 DNA 合成没有完成的话，进入有丝分裂期的进程就会被阻断，如果一些染色体没有正确结合在有丝分裂纺锤体上的话，染色体分离就会被阻止。

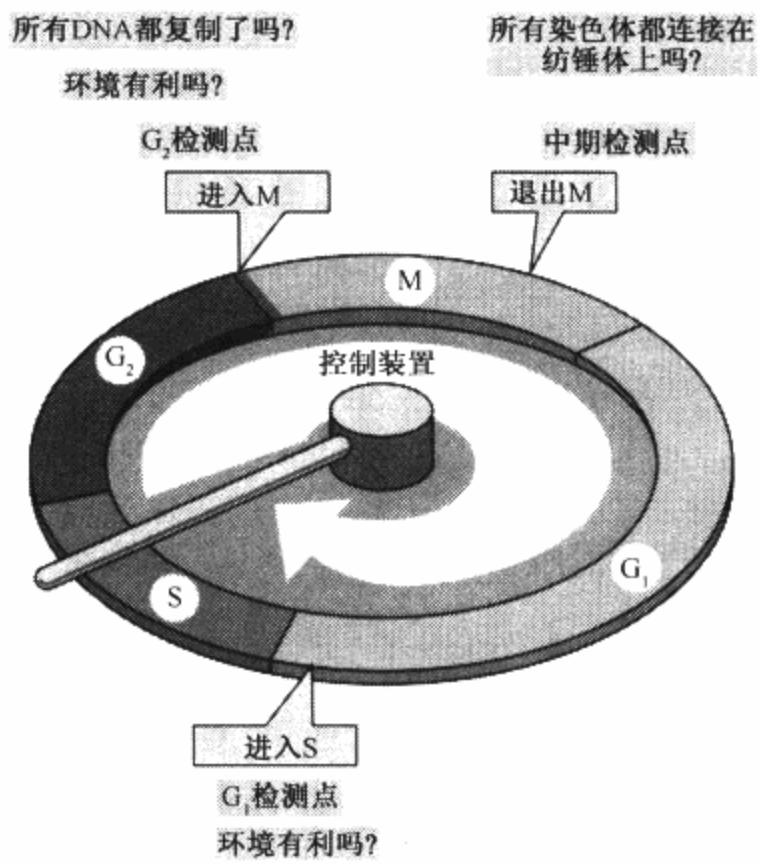


图 17-14　细胞周期控制系统中的检测点

细胞周期事件完成信息以及环境信息都可以引起控制系统将周期控制在某一个特定检测点。比较重要的检测点位于黄框标志位置

如果染色体中的 DNA 被射线或者化学物质损伤的话，G_1 和 G_2 的进程就会被制动机制延迟。在这些 DNA 损伤检测点（DNA damage checkpoint）的延迟可以为损伤 DNA 提供时间进行修复。之后，细胞周期制动器会被释放，周期进程恢复。

在另一方面，检测点也一样重要。它们是细胞周期中控制系统可以被来自其他细胞的外部信息调控的位点。这些机制往往在调控通过 G_1 检测点时起作用，它们或者促进或者抑制细胞增殖，其应用机制将会在后面的章节中讨论。

检测点一般通过细胞内的负反馈信号调控

如前所述，检测点机制往往通过细胞内的负信号阻断细胞周期，而不是通过除去促进细胞周期进程的正信号起作用。下面的讨论将说明这样起作用的原因。

例如，监测染色体结合到有丝分裂纺锤体上的检测点。如果在所有的染色体都正确结合之前，细胞就进入后期并开始将染色体分配到独立的子代细胞中的话，那么一个子代细胞就会得到不完整的染色体组，而另外一个则会得到多余的组分。这样细胞需要具有可以监测最后一个未结合的染色体结合到纺锤体微管上的能力。一个含有很多染色体的细胞，如果每一个染色体在结合上时都向细胞周期控制系统发送一个正向信号的话，就会很难监测最后一个染色体的结合，因为这样的话，信息中的大部分都将是“通过”，其余的只占很少一部分。相反，如果每一个未结合的染色体都发送一个负信号抑制细胞周期进程的话，最后一个染色体的结合将会很容易检测到，因为它将会清楚最后一些“停止”信号。类似的研究表明未复制 DNA 会产生一个停止信号直到 DNA 复制完成，从而抑制有丝分裂期的起始。

说明检测点是通过负信号起作用的最有说服力的证据，来自于利用突变或化学处理使检测点失活的细胞研究。在这些细胞里，即使 DNA 合成或者纺锤体组装没有完成，细胞仍将继续完成细胞周期，说明通常对细胞周期进程来说，检测点并非很重要。检测点被认为是附加到细胞周期控制系统上的附属制动系统，以使调控模式更加精致。

虽然在理想状态下，大部分检测点对普通细胞周期进程不是非常重要，但是对于缺乏检测点的细胞群来说，往往会增加突变的几率，因为这样经常会在 DNA 复制、DNA 修复和纺锤体组装时发生错误。一些这类突变体会导致癌症的发生，这将在第 23 章讨论。

细胞周期控制系统的基础是由细胞周期蛋白激活的蛋白质激酶

处于细胞周期控制系统核心部位的是一类叫做**周期蛋白依赖性蛋白激酶（cyclin-dependent kinase，Cdk）**的蛋白质激酶。在细胞周期中随着细胞进程的完成，这些激酶的活性不断升高或者降低。这样的波动直接导致内部蛋白质的循环磷酸化，这些蛋白质会起始或者调控细胞周期的重要事件，如 DNA 复制、有丝分裂和胞质分裂。例如，有丝分裂期开始时 Cdk 活性的增加会增加控制染色体浓缩、核膜解体和纺锤体形成等有关方面的磷酸化。

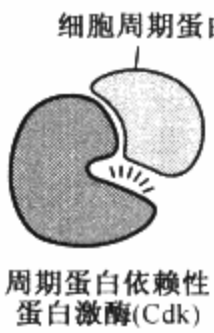


图 17-15　细胞周期控制系统的两个关键元件

周期蛋白和 Cdk 的复合体以蛋白质激酶的形式激活特殊的细胞周期事件。在没有周期蛋白时，Cdk 没有活性

Cdk 活性的细胞周期性变化受一系列复杂的酶和其他蛋白质的控制。对 Cdk 最重要的调控元件是**细胞周期蛋白（cyclin）**，正如 Cdk 名字所说明的一样，其活性依赖于细胞周期蛋白：除非与细胞周期蛋白紧密结合，否则 Cdk 没有蛋白质激酶活性（图 17-15）。之所以如此命名细胞周期蛋白，是因为它们在每个细胞周期中都要经过一个合成和降解循环。相比而言，Cdk 的水平至少在一些简单细胞周期中是稳定的。细胞周期蛋白水平的周期性变化导致细胞周期蛋白——**细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶复合体**组装和活性的周期性变化，这种活性会依次激活细胞周期事件（图 17-16）。

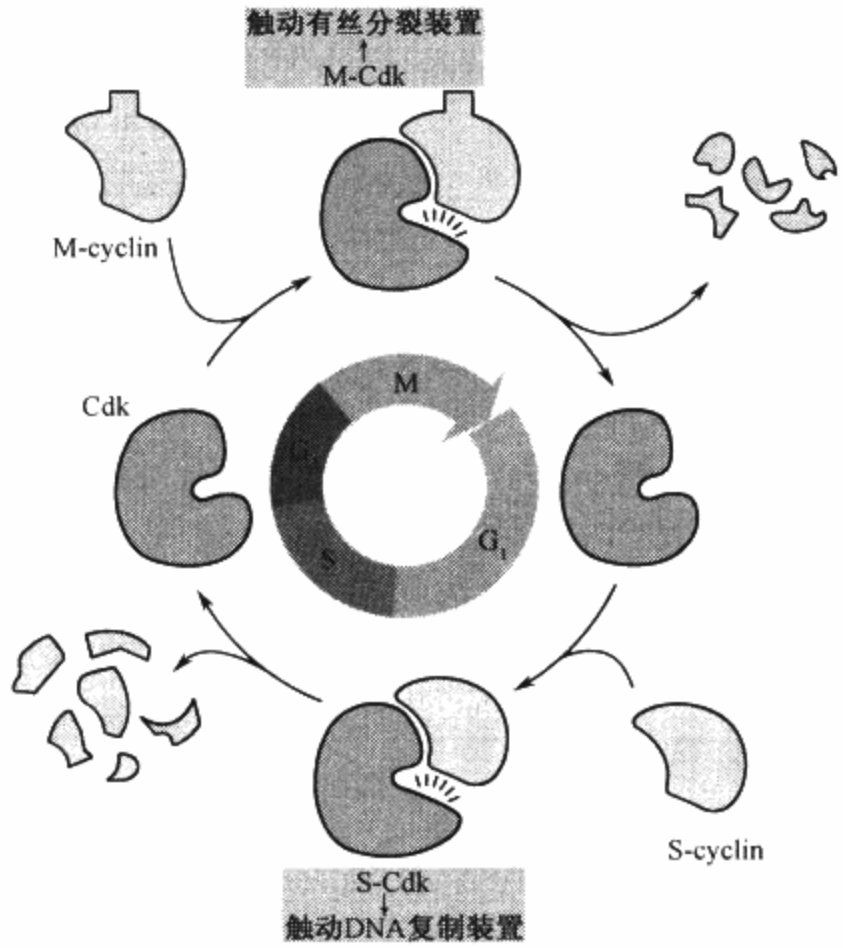


图 17-16　细胞周期控制系统核心简单介绍

Cdk 成功结合不同周期蛋白激活周期中的不同事件。Cdk 通过周期蛋白的降解而失活。为了简单起见，在这里只列出了 S 期（S 周期蛋白 S-cyclin）和 M 期（M 周期蛋白 M-cyclin）的周期蛋白，它们与一个单独的 Cdk 发生作用分别产生 S-Cdk 和 M-Cdk 复合体

根据在细胞周期中结合 Cdk 位置和功能的不同，周期蛋白被分为 4 类。其中的三类是所有真核细胞都需要的：

1. **G_1/S 周期蛋白**在 G_1 末期结合 Cdk 并允许细胞进行 DNA 复制。
2. **S 周期蛋白**在 S 期结合 Cdk，是 DNA 复制开始所必需的。
3. **M 周期蛋白**促进有丝分裂期事件的发生。

在大部分细胞内还存在 **G_1 周期蛋白**，帮助推动越过 G_1 末期的限制点。

在酵母细胞中只有一个 Cdk 蛋白，它可以结合所有类型的周期蛋白，并通过在细胞周期的不同阶段改变所结合的周期伙伴来推动所有的细胞周期事件。但是脊椎动物细胞则有 4 种 Cdk。其中的两个结合 G_1 周期蛋白，一个结合 G_1/S 和 S 周期蛋白，另外一个结合 M 周期蛋白。在这一节中我们把不同的周期蛋白-Cdk 复合体简称为 **G_1-Cdk**、**G_1/S-Cdk**、**S-Cdk** 和 **M-Cdk**。表 17-1 列出了不同物种的 Cdk 和周期蛋白。

表 17-1　脊椎动物和芽殖酵母中的重要周期蛋白和 Cdk

CYCLIN-CDK	VERTEBRATES		BUDDING YEAST	
COMPLEX	CYCLIN	CDK PARTNER	CYCLIN	CDK PARTNER
G_1-Cdk	cyclin D*	Cdk4，Cdk6	Cln3	Cdk1**
G_1/S-Cdk	cyclin E	Cdk2	Cln1，2	Cdk1
S-Cdk	cyclin A	Cdk2	Clb5，6	Cdk1
M-Cdk	cyclin B	Cdk1**	Clb1，2，3，4	Cdk1

* 在哺乳动物中有三个 D 周期蛋白（D cyclin）（周期蛋白 D1、D2 和 D3）。

** 在脊椎动物和裂殖酵母中 Cdk1 最初被称为 Cdc2，而在芽殖酵母中最初则被称为 Cdc28。

不同的 cyclin-Cdk 复合体是如何推动不同的细胞周期事件的呢？至少部分原因是因为周期蛋白不但激活其 Cdk 搭档，还指导 Cdk 结合到特定靶蛋白。结果是每一个 cyclin-Cdk 复合体磷酸化一系列不同的蛋白质底物。相同的 cyclin-Cdk 复合体可以在周期的不同时间产生不同的作用，这可能是因为一些 Cdk 底物的可结合活性在细胞周期中发生了变化。例如，一些在有丝分裂期起作用的蛋白质只能在 G_2 期可以被磷酸化。

对 Cdk 和周期蛋白三维结构的研究表明，在没有周期蛋白时，Cdk 蛋白的活性位点会被蛋白质的其他结构部分隐藏，就像一块石头封闭了井口一样［图 17-17（A）］。周期蛋白的结合将使遮盖物从活性位点移开，这样，Cdk 酶活性就会被部分激活［图 17-17（B）］。当一个单独的激酶——**Cdk 激活激酶（Cdk-activating kinase，CAK）** 将 Cdk 活性位点入口处附近的氨基酸磷酸化之后，cyclin-Cdk 复合体的活性才会被完全激活。这会引起构象的细微变化以增强 Cdk 的活性，使激酶更加有效的磷酸化其靶蛋白，由此诱发特定细胞周期事件［图 17-17（C）］。

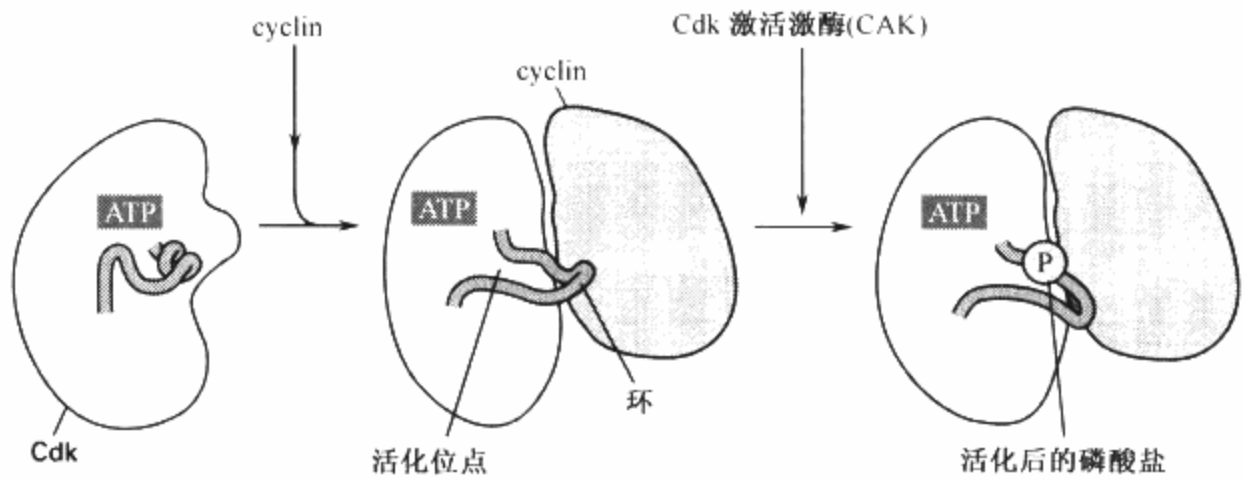


图 17-17　Cdk 活性的结构学基础

绘图依据是人类 Cdk2 蛋白晶体 X 射线衍射所获得的蛋白质三维结构。在图上标出了 ATP 的结合位置。Cdk 酶活有三种状态：（A）在失活状态，没有周期蛋白的结合，活性位点被一个称为 T 环（T-loop，红色）的蛋白质区域封闭。（B）周期蛋白的结合使 T 环从活性位点移开，Cdk2 部分激活。（C）T 环上苏氨酸的磷酸化（由 CAK 完成）改变 T 环的形状而进一步激活酶的活性，提高激酶与靶蛋白结合的能力

Cdk 活性可以被抑制磷酸化或者抑制蛋白阻断

细胞周期蛋白表达水平的上升和下降是细胞周期中 Cdk 活性的首要决定因素。但是在细胞周期中的一些特定阶段，一些其他附属机制对调控 Cdk 的活性也非常重要。

将活性位点顶端的一对氨基酸磷酸化，可以使 cyclin-Cdk 复合体失活。通过一个被称为 **Wee1** 的蛋白质激酶对这些位点进行的磷酸化可以抑制 Cdk 的活性，相反，由一个叫做 **Cdc25** 激酶对这些位点进行的脱磷酸化可以增加 Cdk 的活性（图 17-18）。后面我们将会讲到这个调控机制在有丝分裂起始阶段对控制 M-Cdk 的活性有一定的意义。

cylin-Cdk 复合体也可以通过结合 **Cdk 抑制蛋白（Cdk inhibitor protein，CKI）** 进行调节。细胞中有一系列的 CKI 蛋白，并且主要在 G_1 期和 S 期起作用。cylin-Cdk-CKI 的三维结构表明，CKI 的结合显著的重构了 Cdk 的活性位点的结构，导致其失活（图 17-19）。

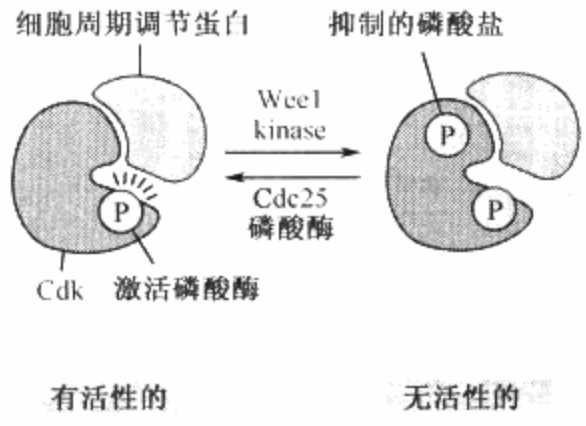


图 17-18　通过抑制磷酸化调控 Cdk 的活性

Wee1 激酶对活性位点顶部的两个相邻间隔位点的磷酸化可以关闭活性 cyclin-Cdk 复合体。Cdc25 磷酸化酶对这些位点的去磷酸化又可以激活 cyclin-Cdk 复合体。为了简单起见，只列出了一个抑制磷酸酶。如图 17-17 所示，激活磷酸酶通过 CAK 起作用

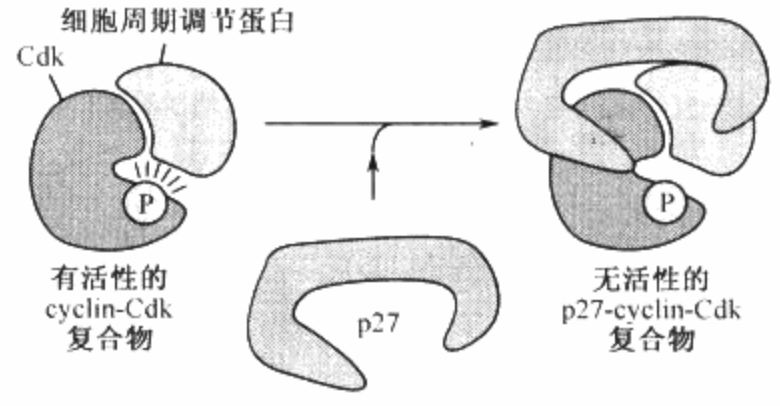


图 17-19　CKI 对 cyclin-Cdk 复合体的抑制

绘图依据是结合到 CKIp27 上的人类 cyclin A-Cdk2 复合体的蛋白质晶体 X 射线衍射所获的蛋白质三维结构。在复合体中，p27 同时结合 cyclin 和 Cdk，扭曲 Cdk 的活性位点。它还可以插入 ATP 结合位点，进一步抑制酶活

细胞周期控制系统依赖于周期性蛋白质水解

细胞周期控制主要依赖于至少两种不同的酶复合体，它们在周期的不同时间对细胞周期控制系统中的关键蛋白质进行水解，使它们失活。值得特别注意的是，cyclin-Cdk 复合体也是通过调控蛋白酶在特定细胞阶段对 cyclin 的蛋白质酶解完成失活的。与细胞内的许多蛋白质的酶解相似，这类 cyclin 的发生是泛素依赖型的（第 6 章讨论）。激活的酶复合体识别 cyclin 上的特定氨基酸序列，并指导多个拷贝的泛素结合，使标记后的蛋白质在蛋白酶体中完全降解。

cyclin 降解中的限速步骤是由激酶催化的最终泛素转移反应（图 6-87），该激酶被称为**泛素连接酶（ubiquitin ligase）**。在 cyclin 和其他细胞周期调控因子的降解过程中，有两种泛素连接酶非常重要。在 G_1 期和 S 期，一个叫做 SCF 的酶复合体负责 G_1/S-cyclin 和控制 S 期起始的特定 CKI 蛋白的泛素化和降解，SCF 的名字来源于其三个蛋白质亚基。在 M 期，后期促进复合体（anaphase-promoting complex，APC）负责 M-cyclin 和其他有丝分裂期调控因子的泛素化和降解。

这两个多组分的大型复合体包含一些类似的组分，但是它们却以不同的方式进行调节。在细胞周期中，SCF 活性比较稳定。常通过改变目的蛋白质的磷酸化状态进行控制由 SCF 完成的泛素化：只有经过特殊磷酸化的蛋白质才会被识别、泛素化和降解［图 17-20（A）］。相反，在细胞周期的不同阶段，APC 具有不同的活性。APC 的开启主要依赖于额外激活亚基结合到复合体上［图 17-20（B）］。我们将在后面详细讨论 SCF 和 APC 的功能。

细胞周期调控还依赖于转录调控

在前面讲到的爪蟾卵细胞周期，是不发生基因转录的。细胞周期调控完全依赖于转录后机制，这包括通过磷酸化对 Cdk 活性的调节和与 cyclin 等调控蛋白的结合，cyclin 又通过蛋白质酶解自我调节。但是，在大部分类型细胞的复杂细胞周期中，转录控制提供了额外水平的调控方式。例如，在大部分细胞中，不仅 cyclin 的降解在改变 cyclin 的水平，cyclin 基因的转录和 cyclin 合成也在改变 cyclin 的水平。

在一些如芽殖酵母样的特定生物体中，我们可以利用 DNA 微阵列（DNA array，在第 8 章讨论）来分析细胞完成整个细胞周期进程中基因组中所有基因的表达。研究的结果令人吃惊。

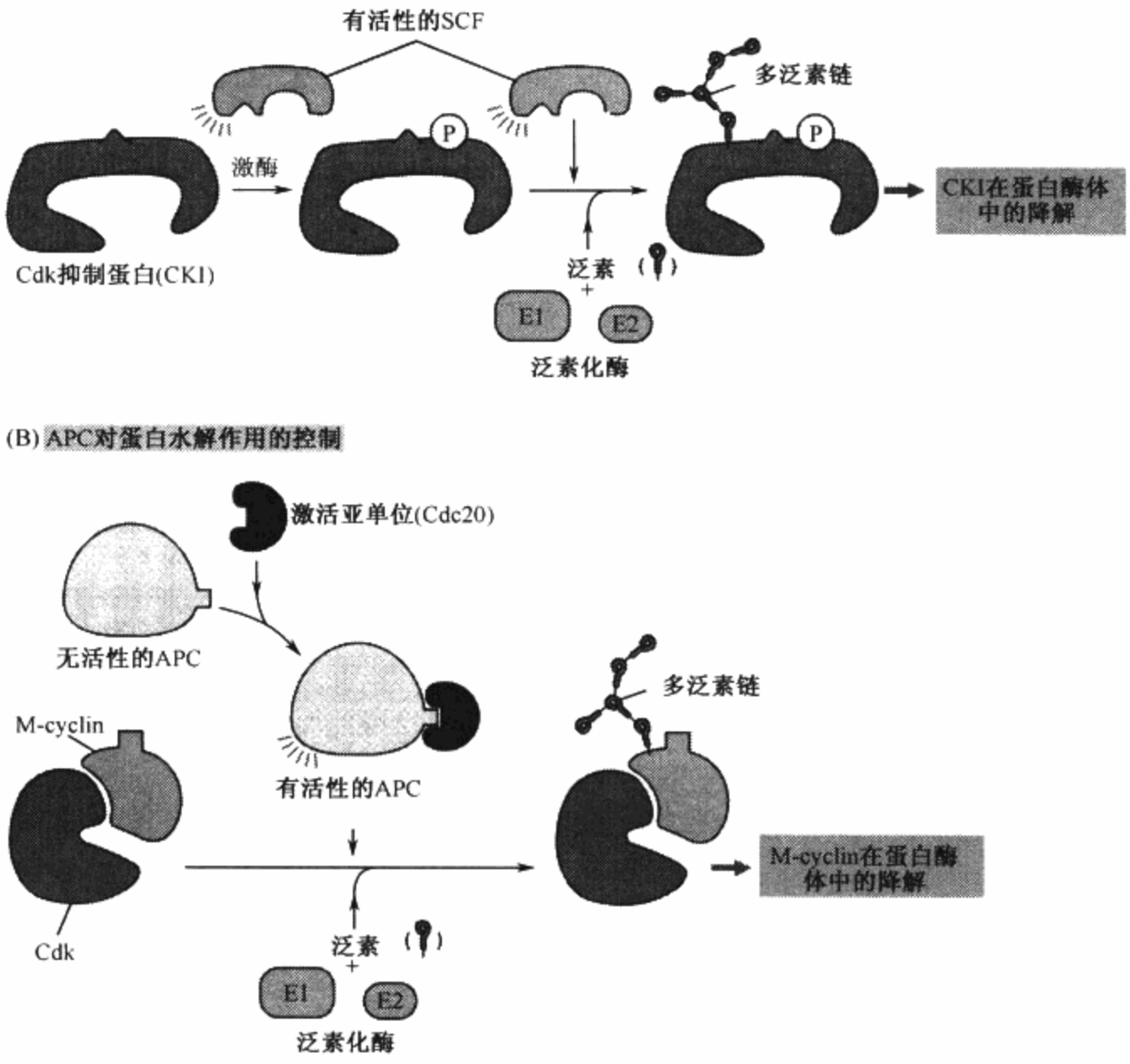


图 17-20　细胞周期中 SCF 和 APC 对蛋白质酶解的控制

（A）靶蛋白（如图中所示的 CKI）的磷酸化使蛋白质被持续处于活性状态的 SCF 识别。在两个称为 E1 和 E2 的蛋白质的协助下，SCF 作为泛素连接酶将多倍泛素分子结合到 CKI 蛋白上。之后，在蛋白酶体中，泛素化的 CKI 蛋白会迅速被识别和降解。（B）M-cyclin 的泛素化由 APC 完成，在有丝分裂期后期，APC 通过在复合体上结合一个激活亚基被激活。SCF 和 APC 都包含有识别靶蛋白特定氨基酸序列的结合位点

大约 10%的酵母基因编码水平在细胞周期中发生周期摆动的 mRNA。其中的一些基因编码已知具有细胞周期功能的蛋白质，但是大部分其他基因的功能是未知的。似乎这些基因的起伏表达受 cyclin-Cdk 依赖的基因调控蛋白的磷酸化作用的控制，但是这类调控的细节仍旧未知。

小结

独立的细胞周期控制系统诱发细胞周期中的事件，这类控制系统保证事件正确起始、以正确的顺序发生并且在整个细胞周期中只发生一次。控制系统对各种胞内和胞外信号做出反应，以使细胞在没有完成一个重要的细胞周期事件或者遭遇不适合环境状况时停止细胞周期进程。

细胞周期控制系统的中心元件是周期蛋白依赖的蛋白质激酶（cyclin-dependent protein kinase，CDk），其活性依赖于和一个叫做细胞周期蛋白（cyclin）的结合。各种 cyclin-Cdk 复合体活性的起伏指导周期中各种事件的起始。因此，S 期 cyclin-Cdk 复合体的激活开启 S 期，而 M 期 cyclin-Cdk 的激活诱发有丝分裂。cyclin-Cdk 的活性受几种机制的调节，这包括 Cdk

亚基的磷酸化、与特定抑制蛋白（CKI）的结合、cyclin 的蛋白质酶解以及编码 Cdk 调控子基因转录水平的变化。在细胞周期控制系统中，SCF 和 APC 这两个酶复合体也是非常关键的元件，它们通过泛素化降解特定细胞周期调控子，从而诱发细胞周期中的一些关键事件。

细胞内的细胞周期事件控制

每一个不同的 cyclin-Cdk 元件都是诱发一个特定细胞周期事件的分子开关。我们现在讨论这些开关如何起始这类事件，以及细胞周期控制系统如何保证这些开关以正确的顺序开启，并在每个循环中只开启一次。我们先讨论细胞周期中的两个关键事件：S 期的 DNA 复制和 M 期的染色体分离和细胞分裂。之后，我们将讨论在 G_1 期中的关键调控机制如何控制细胞是否进行分裂。

每个周期中 S 期 cyclin-Cdk 复合体（S-Cdk）起始一次 DNA 合成

在控制 DNA 复制开始和完成时，细胞必须解决很多问题。这不仅包括必须非常精确地完成复制以最大限度降低下一代细胞发生突变的风险，还包括基因组的每个核甘酸都发生拷贝一次，而且只有一次，以阻断基因复制的破坏性影响。在第 5 章，我们讨论了以惊人速度和精度进行 DNA 复制的精密蛋白质机制。在这一章，我们会研究细胞周期控制系统的精密机制，整个系统可以起始复制进程同时阻止每个循环中第二次复制的发生。

最早有关 S 期调控的线索，来源于将处于细胞周期不同时期的细胞融合形成含有两个细胞核的单细胞的研究。这些研究表明，当一个 G_1 期细胞和 S 期细胞发生融合时，在 G_1 期细胞核内发生 DNA 的复制（推测是由 S 期细胞内的 S-Cdk 引起的）。但是，将 G_2 期细胞和 S 期细胞融合时，G_2 期细胞的核内则不发生 DNA 合成（图 17-21）。这些研究明显说明只有 G_1 期细胞可以进行 DNA 合成，其他已经完成 S 期的细胞（如 G_2 期细胞）即使在给它们提供 S-Cdk 活性的情况下也不能复制其 DNA。似乎完成有丝分裂是细胞重新进行 S

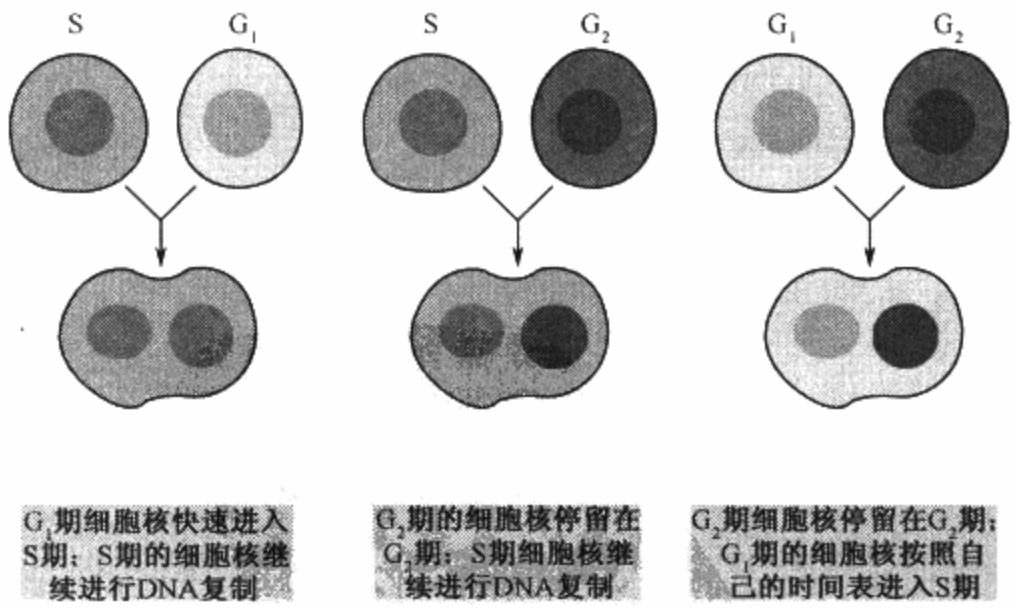


图 17-21　重复复制阻断的细胞融合实验证据

1970 年在哺乳动物细胞中完成该实验。（A）结果显示 S 期细胞质含有可以推动 G_1 期细胞直接进行 DNA 合成的因子。（B）已经完成 DNA 复制的 G_2 期细胞对这类因子有抵抗性。（C）将 G_2 期细胞和 G_1 期细胞融合不能推动 G_1 期细胞核进行 DNA 合成，说明在 S 期出现的用于 DNA 合成的细胞质因子在细胞从 S 期过渡到 G_2 期时发生了消失（摘自 R. T. Johnson and P. N. Rao, *Nature* 226：717～722，1970）

期的必要条件。

到了最近我们才开始破译这些细胞融合实验中的分子机制。在分散到染色体上的复制起点处（origins of replication）DNA 开始复制。在芽殖酵母（*S. cerevisiae*）中，复制起始比较

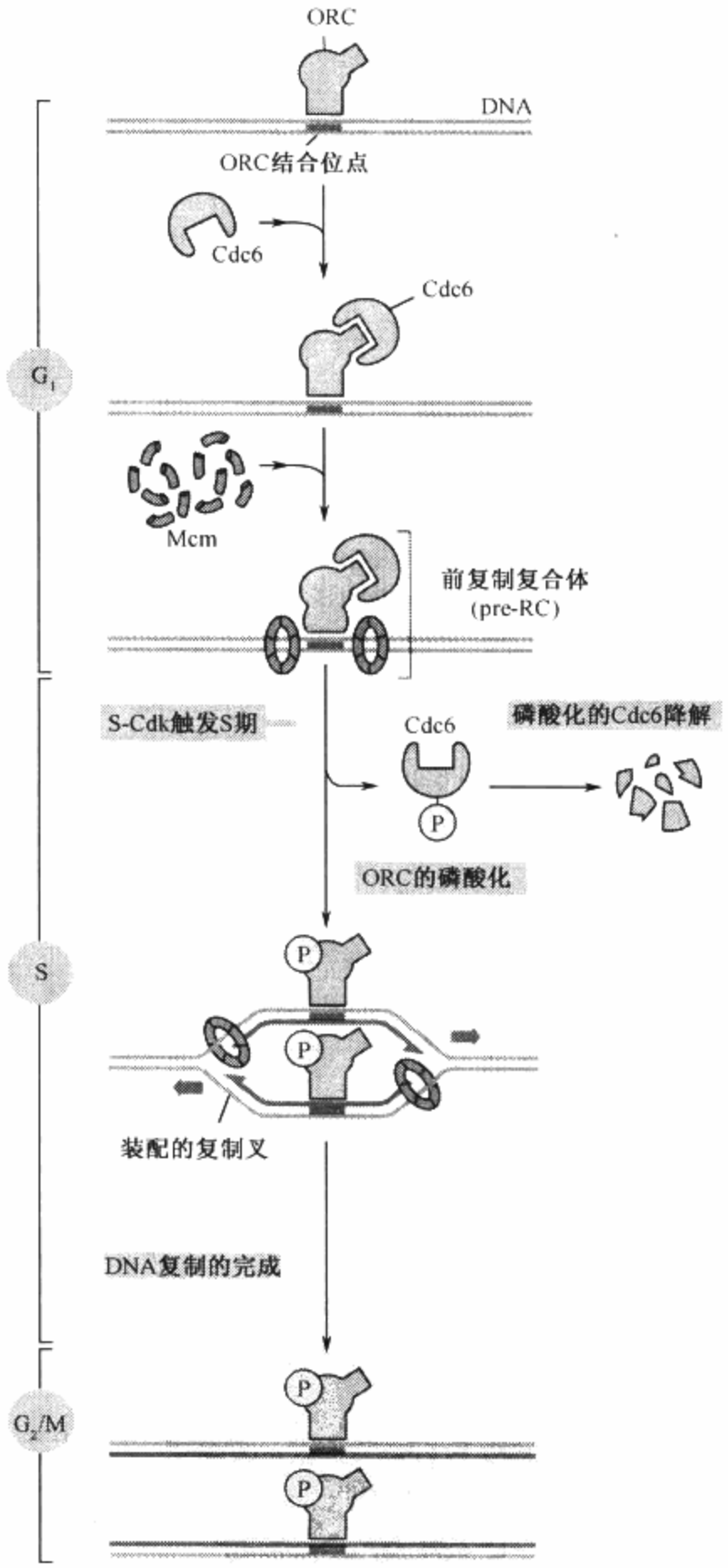


图 17-22　每个细胞周期中 DNA 复制起始一次

在整个细胞周期中，ORC 一直结合在复制起始点。在早 G_1 期，Cdc6 与 ORC 结合。在 Cdc6 的协助下，Mcm 环状复合体在附近的 DNA 上组装，形成前复制复合体。之后，S-Cdk（在另一个蛋白质的协助下，没有列出）诱发起始点 firing、组装 DNA 聚合酶以及其他复制蛋白，并激活 Mcm 蛋白环作为 DNA 解旋酶沿 DNA 链移动。S-Cdk 也可以通过引起 Cdc6 从复制起点解离、Cdc6 的降解以及多余 Mcm 外运出核阻断重复复制。在有丝分裂期末尾 M-Cdk 被灭活前，Cdc6 和 Mcm 不能回到包含 ORC 的复制起点进行另一轮 DNA 复制

简单而且研究比较清楚，而且有关起始机制的大部分知识都来自于对这个物种的研究。分析结合到酵母复制起始位置的蛋白质表明，那里有一个被称为起始识别**复合体（origin recognition complex，ORC）**的大型蛋白质复合体。在整个细胞周期中，这个蛋白质结合到复制起始位置，并成为一些其他调控蛋白的结合点。

其中的一个调控蛋白是**Cdc6**。在细胞周期中该蛋白质的表达量很少，但是在早 G_1 期会瞬时快速提高。在早 G_1 期，它结合到复制起始点处的 ORC 上，在那里有由一群非常相似的**Mcm 蛋白**组成的复合体需要与之结合。在起点位置最终形成的大蛋白质复合体叫做**前复制复合体（pre-replicative complex）或者 pre-RC**（图 17-22）。

在 G_1 期，一旦 pre-RC 组装完成，复制起点就可以准备启动。在晚 G_1 期 S-Cdk 的激活会触发扳机开始 DNA 合成。复制启动还需要第二个蛋白激酶的活性，它将和 S-Cdk 一起引起 ORC 的磷酸化。

S-Cdk 不仅帮助起始位点启动复制，还从多个方面帮助阻止再次复制。首先，它诱导 Cdc6 蛋白在复制开始后从 ORC 上解离。这将导致 pre-RC 的解体，从而阻止在同一位置再次发生复制。其次，它还会阻止 Cdc6 和 Mcm 在任何位置重新组装。通过对 Cdc6 的磷酸化，诱发 Cdc6 被前面介绍的 SCF 酶复合体进行泛素化。结果是，没有结合到复制起点的 Cdc6 蛋白会被蛋白酶体快速降解。S-Cdk 还磷酸化某些 Mcm 蛋白，这将引起这些蛋白质从核内外运，从而更加确保 Mcm 蛋白复合体不能结合到复制起始位置（图 17-22）。

在 G_2 期和有丝分裂的早期，S-Cdk 仍将保持活性，从而阻止 S 期结束后再次复制的发生。M-Cdk 也会通过对 Cdc6 和 Mcm 蛋白的磷酸化帮助保证再次复制在有丝分裂期不再发生。G_1/S-Cdk 也会通过诱导 Mcm 外运出核，使没有和起始位置结合的多余 Mcm 蛋白在晚 G_1 期复制开始前失活。

这样在 S 期之后，几种 cyclin-Cdk 复合体协同阻断 pre-RC 的组装并阻止 DNA 的再次复制。但是这样的话，细胞周期控制系统又是如何归零，从而允许复制在下一轮细胞周期中发生的呢？答案很简单。在有丝分裂期结束时，细胞中所有的 Cdk 活性都被归零。Cdc6 和 Mcm 蛋白的去磷酸化允许 pre-RC 再次发生组装，使染色体做好准备进行新的一轮复制。

M 期 cyclin-Cdk 复合体的激活诱发进入有丝分裂期

DNA 复制的完成使 G_2 期细胞具有两个精确拷贝的完整基因组，每一个复制好的染色体含有长向铰链在一起的两个独立的姐妹染色单体。之后细胞经历变化巨大的 M 期，期间复制的染色体和其他细胞元件被均分到两个子代细胞中。S 期完成后，激活的 M-Cdk 诱发有丝分裂期事件的发生。

随着 M-cyclin（脊椎动物细胞中的 cyclin B，见表 17-1）的积累，M-Cdk 开始被激活。在整个卵细胞的细胞周期中一直进行 M-cyclin 的合成，M-cyclin 的积累是因为其降解速度降低。但是对于大部分类型的细胞，M-cyclin 在 G_2 期和 M 期的合成会增加，这主要是因为 M-cyclin 基因转录水平的提高。M-cyclin 蛋白质的增加会导致细胞接近有丝分裂期时 M-cyclin（Cdk1 和 M-cyclin 的复合体）水平的不断积累。虽然复合体中的 Cdk 已经被前面讲的 CAK 酶在活性位点磷酸化激活，但是通过蛋白激酶 Wee1 对 Cdk 两个相邻位点的抑制磷酸化，该蛋白质仍被抑制处于失活状态（图 17-18）。这样，在细胞到达 G_2 期的末期时，细胞内会储存有大量的待激活状态 M-Cdk，但是由于两个位点的磷酸化覆盖了激酶的活性位点，M-Cdk 的活性是被抑制的。

那么储存的 M-Cdk 又是如何被激活的呢？G_2 期后期蛋白磷酸酶 Cdc25 的激活是这里面

的关键事件，Cdc25 将去除限制 M-Cdk 活性的抑制磷酸化（图 17-23）。与此同时，抑制激酶 Wee1 的活性也被抑制，再度保证 M-Cdk 活性的突然增加。两个蛋白激酶激活 Cdc25。其中一个叫 **Polo kinase** 的蛋白质会磷酸化 Cdc25 的一组位点。M-Cdk 自身则是另外一个激酶，将磷酸化 Cdc25 上的另外一组位点。M-Cdk 还会磷酸化 Wee1，并抑制其活性。

M-Cdk 可以激活其自身激活因子（Cdc25）并能抑制其抑制因子（Wee1），说明有丝分裂期 M-Cdk 的激活存在正反馈调节（图 17-23）。根据这个模型，Cdc25 可能被 Polo 激酶部分激活，导致部分 M-Cdk 复合体被激活，激活的 M-Cdk 复合体将会进一步磷酸化更多的 Cdc25 和 Wee1 分子。这会导致更多的 M-Cdk 复合体被脱磷酸化激活，如此重复。这样的机制将促进细胞内所有的 M-Cdk 复合体快速激活，大量增加 M-cyclin 水平，使 M-Cdk 活性像开关一样突然升高。正如前面讨论的一样，类似的分子开关控制着细胞周期的各个位点，保证像进入有丝分裂期这类重要事件以是或者否这种模式进行。

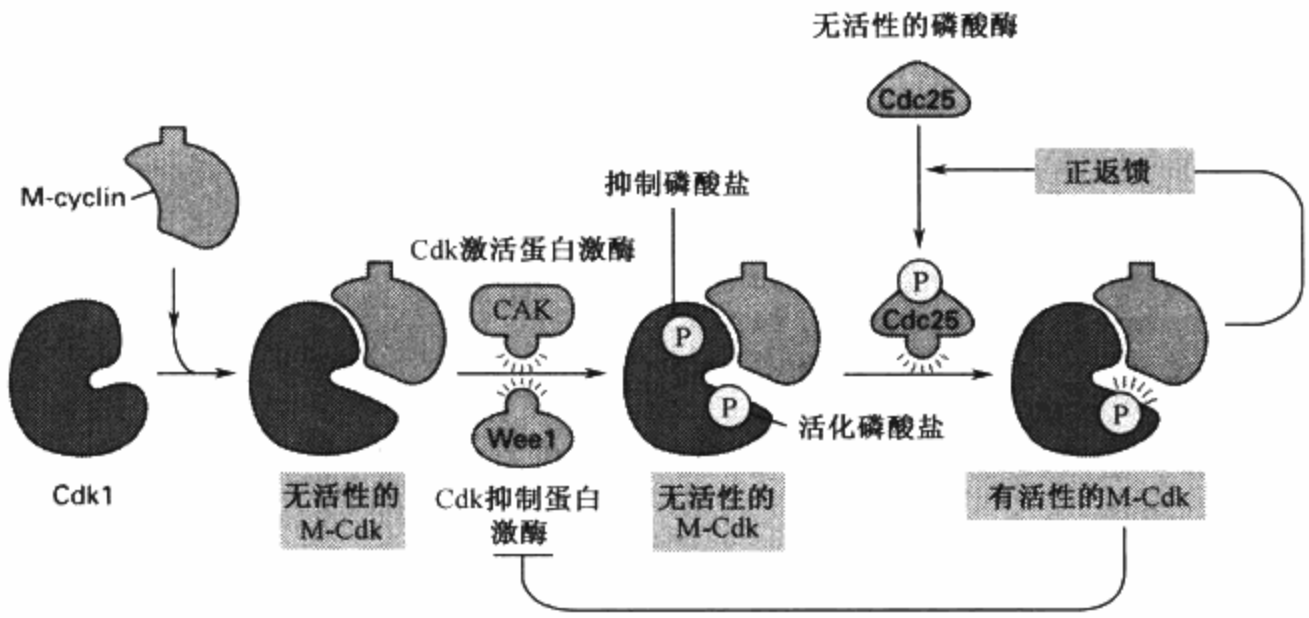


图 17-23　M-Cdk 的激活

在 M-cyclin 逐渐积累过程中，Cdk1 与 M-cyclin 结合。产生的 M-Cdk 复合体在一个活性位点被 Cdk 激活蛋白激酶（Cdk-activating kinase，CAK）磷酸化，在一对抑制位点被 wee1 激酶磷酸化。失活状态的 M-Cdk 在 G_2 期末期被磷酸酶 Cdc25 激活。Cdc25 被 Polo 激酶部分激活（简单起见未标出）。在正反馈效应下，Cdc25 被激活的 M-Cdk 进一步激活。M-Cdk 还会抑制 Wee1，增强正反馈效应

进入有丝分裂期会被不完整的 DNA 复制阻断：DNA 复制检测点

如果一个细胞在完成其 DNA 复制前进入有丝分裂期，那么它将会给其子代细胞传递一套断裂或者不完整的染色体。在大部分细胞内，这个灾难可以被 **DNA 复制检测点（DNA replication checkpoint）** 避免，该检测点保证在基因组上最后一个核苷酸复制完成前，不起始有丝分裂。一些分子物质未知的传感器机制，探获未完成复制的 DNA 或者相应的未结束的复制叉，并向细胞周期控制系统发送一个负信号，阻断 M-Cdk 的激活。这样，如果对正常细胞的用类似羟基脲（hydroxyurea）的化学物质进行处理，那么细胞将不能进入有丝分裂期。但是如果检测点机制缺失，例如，突变的酵母细胞或者用高剂量的咖啡因（caffeine）处理人类细胞，那么尽管没有完成 DNA 复制，细胞仍将进入自杀性有丝分裂（图 17-24）。

负检测点信号的最终作用位点是控制 M-Cdk 活性的酶。负信号会激活抑制 Cdc25 蛋白磷酸化酶活性的蛋白激酶（图 17-18 和图 17-23）。结果是在 DNA 复制完成前，M-Cdk 将一直保持磷酸化失活状态。

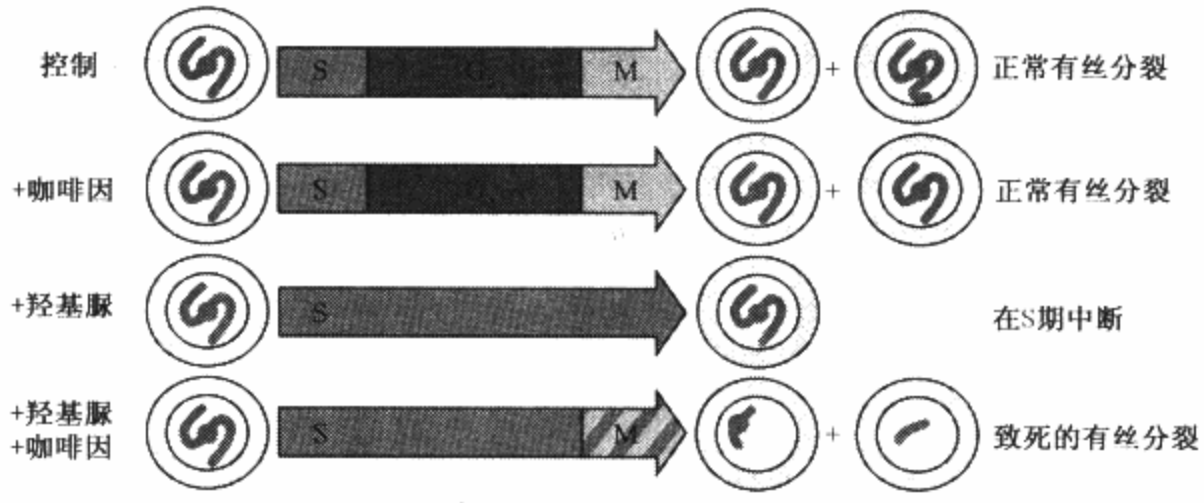


图 17-24　DNA 复制检测点

在图中所示的实验中，培养细胞用单独的羟基脲和咖啡因处理或者用两种物质混合处理。羟基脲阻断 DNA 合成。DNA 的合成阻断将会激活检测点机制使细胞在 S 期停滞，延迟有丝分裂。但是当咖啡因和羟基脲同时加入时，检测点机制失活，含有未完全复制 DNA 的细胞以正常程序进入有丝分裂期。最终结果是细胞死亡

M-Cdk 为复制染色体分离做准备

细胞周期控制中最重要的特征之一是一个简单的蛋白激酶 M-Cdk，它能诱导所有发生在有丝分裂早期的各种不同的复杂的重排（在第 18 章讨论）。至少 M-Cdk 必须诱导有丝分裂纺锤体的组装并保证复制的染色体集合到纺锤体上。在多种有机体中，M-Cdk 还诱发染色体浓缩、核膜裂解、细胞骨架微管蛋白重排以及高尔基体和内质网的重组。每一个事件可能都是在 M-Cdk 磷酸化事件中的特殊结构或者调控蛋白时才被激发的，不过这些蛋白质中的大部分还没被发现。

例如，核膜的裂解需要核纤层的解体，核纤层是由聚合核纤层蛋白丝构成的内壳，可以使核膜结构稳固。M-Cdk 对核纤层蛋白的直接磷酸化导致这些蛋白质结聚，这是核膜解体的第一步（图 12-21）。

染色体浓缩似乎也是 M-Cdk 磷酸化的直接结果。在非洲爪蟾卵中染色体的浓缩需要一个叫做**浓缩复合体（condensation complex）**的五蛋白复合体。M-Cdk 会磷酸化复合体中的一些亚基，在试管中两个亚基可以改变 DNA 分子的卷曲。在有丝分裂期中，卷曲活性被认为对染色体浓缩非常重要（图 4-56）。

M-Cdk 的磷酸化还会诱发微管复合体的重组以及其他事件导致有丝分裂纺锤体的组装。正如在第 18 章讨论的那样，M-Cdk 还磷酸化一系列调控微管活动的蛋白质，引起纺锤体组装所需的微管不稳定性。

蛋白质酶解诱发姐妹染色单体分离

当 M-Cdk 在有丝分裂前期诱发复杂的重组后，随着在中期到后期转换点位置**姐妹染色单体（sister chromatid）**的分离，细胞周期到达了周期中的顶峰。虽然 M-Cdk 的活性为分离创造了条件，但是开启姐妹染色单体分离起始开关的却是前面介绍的一个完全不同的酶复合体——**后期促进复合体（anaphase-promoting complex，APC）**。APC 是一个高度调控的泛素连接酶，可以促进几个有丝分裂调控蛋白的降解［图 17-20（B）］。

在有丝分裂早期，两个姐妹染色单体与有丝分裂纺锤体相对两极的结合产生拖开两个染

色单体的张力。由于两个姐妹染色单体在中心粒和染色体臂处结合紧密，一开始这种拖力是被限制的。这种姐妹染色单体的黏合依赖于一个叫做**黏合复合体（cohesin comple）**的蛋白质复合体，该蛋白质在S期染色体被复制时结合到染色体上。黏合蛋白（cohesin）与在染色体浓缩中起作用的凝聚复合体中的蛋白质密切相关，表明这两个过程有相同的进化起源（图18-2）。

细胞后期随着姐妹染色单体间黏合的突然分解，姐妹染色单体得以分离并向纺锤体的相反两极运动。这个过程由一系列特殊的信号事件控制。姐妹染色单体的分离需要APC酶复合体的激活，说明蛋白质酶解是该过程中的中心事件（图17-25）。APC相应的靶标是**securin**蛋白。在后期前，securin结合并抑制一个叫**separase**的蛋白酶的活性。中期结束时，securin的破坏使separase释放，之后separase将自由切割黏合复合体中的一个亚基。黏合复合体立刻从染色体上解离，姐妹染色单体分离（图17-26）。如果是APC起始后期的话，那是什么激活APC的呢？我们只知道部分答案。APC的活性需要Cdc20，在有丝分裂期，Cdc20结合并激活APC［图17-26和17-20（B）］。至少两个过程调控Cdc20及其与APC的结合。首先，在细胞接近有丝分裂期时，Cdc20的合成会由于转录的提高而增加。其次，APC的磷酸化帮助Cdc20与之结合，从而帮助构建活性复合体。

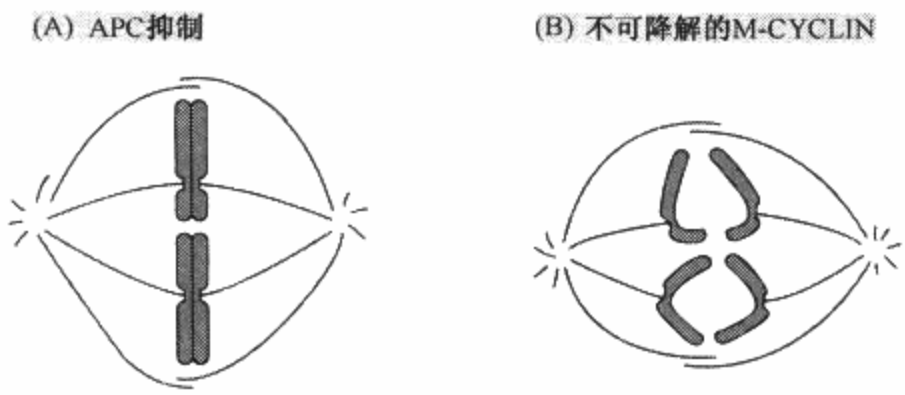


图17-25　证明离开有丝分裂期需要蛋白质降解的两个实验

（A）在体外进行有丝分裂的爪蟾卵中加入APC抑制物（图17-9）。抑制物在中期阻止有丝分裂，说明在中期到后期转节点处，姐妹染色单体的分离需要蛋白质酶解。APC元件突变的酵母中也发生类似抑制。（B）在有丝分裂期爪蟾卵抽提物中加入非降解形式的M-cyclin突变体。这会在姐妹染色单体分离后阻断有丝分裂，说明M-cyclin的降解不是姐妹染色单体分离所必需的，但却是随后离开有丝分裂期所必需的（摘自S. L. Holloway et al., *Cell* 73：1393～1402，1993）

还不清楚哪一个激酶磷酸化激活Cdc20-APC复合体。这些激酶的活性需要M-Cdk的活性，但是在M-Cdk的激活和Cdc20-APC复合体的激活之间会有一个明显延迟，或者滞后期（lag phase）。这个滞后的分子机制仍不清楚，但是它似乎控制着后期如何在M期的正确时间起始的钥匙。

未结合染色体阻断姐妹染色单体分离：纺锤体结合检测点

在完成准备前，细胞不会允许自己进行后期的重要事件。在许多细胞中，有一个**纺锤体结合检测点**机制在起作用，保证姐妹染色单体分离发生前所有染色体都正确结合到纺锤体上。检测点依赖于一个监测着丝粒（kinetochore）状态的传感器机制，着丝粒是染色体上与纺锤体微管结合的特殊区域。任何没有正确结合到纺锤体上的着丝粒都会向细胞周期控制系统发送一个负信号，阻断Cdc20-APC的激活和姐妹染色单体的分离。

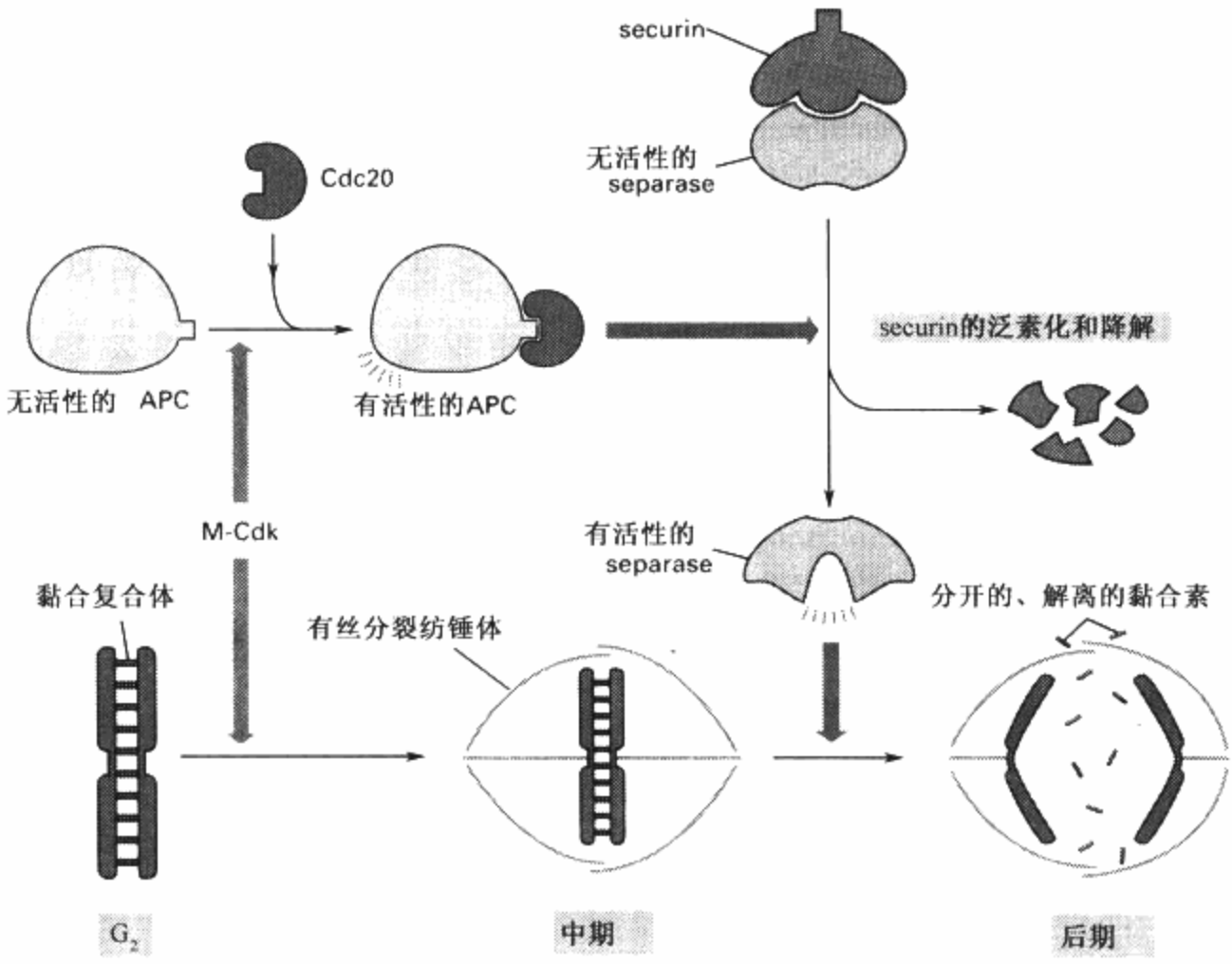


图 17-26　APC 诱导的姐妹染色单体的分离

被 Cdc20 激活的 APC 导致 securin 的泛素化和降解，securin 在正常情况下会结合 separase 处于失活状态。securin 的降解使 separase 得以剪切黏合姐妹染色单体的黏合复合体上的一个亚基。然后，有丝分裂纺锤体上的拖力使姐妹染色单体分离。至少在芽殖酵母中，在后期开始前，靠近剪切位点的黏合复合体的磷酸化促进了 separase 的黏合剪切。磷酸化由 Polo 激酶介导，并为中期到后期转化时间提供辅助控制

虽然包括 Mad2 在内的一些蛋白质被招募到未结合着丝粒，并参与纺锤体结合检测点行使功能，但是我们还不清楚未结合着丝粒产生的信号到底是什么物质。在细胞中即使仅有一个未结合的着丝粒，也会使 Mad2 结合并抑制 Cdc20-APC 的活性以及 Securin 的降解(图 17-27)。这样，在最后一个着丝粒结合之前不会发生姐妹染色单体的分离。

令人吃惊的是，普通后期时钟不需要纺锤体结合检测点行使功能，至少在爪蟾胚胎和酵母中是这样。检测点缺失的酵母突变体细胞会以正常的时间完成细胞后期，暗示在这些细胞中通常是由一些其他机制决定后期的时间。但是在哺乳动物细胞中，纺锤体结合检测点机制缺失会导致后期的发生比正常细胞稍微提前。这个结果表明，在我们的细胞中检测点机制是由细胞周期控制系统中某个重要组分的有益附件进化而来的。

有丝分裂期的结束需要 M-Cdk 的失活

在染色体分离到纺锤体的极点后，细胞必须将复合体的变化恢复到有丝分裂早期。纺锤体必须消失，染色体去凝集，核膜重建。因为一开始许多蛋白质的磷酸化使细胞得以进入有丝分裂期，所以在离开有丝分裂期时需要对这些蛋白质进行去磷酸化也就是理所当然了。理论上说，脱磷酸化和离开有丝分裂期需要 M-Cdk 的失活或磷酸酶的激活，或者需要二者的共同作用。有证据表明 M-Cdk 的失活更加重要。

M-Cdk 的失活主要是由泛素依赖的 M-cyclin 的蛋白质酶解引起的。cyclin 的泛素化通常

是由在中期到后期转换点推动 Securin 降解的相同的 Cdc20-APC 复合体诱发［图 17-20 (B)］。如此说来，Cdc20-APC 复合体的激活不仅推动细胞进入细胞后期，还使 M-Cdk 失活。失活的 M-Cdk 会依次诱发使细胞离开有丝分裂期的其他所有事件。

G_1 期是 Cdk 稳定失活的一个时期

在动物早期胚胎中，有丝分裂后期 M-Cdk 的失活几乎完全是由 Cdc20-APC 的激活引起的。但是却是 M-Cdk 激活了 Cdc20-APC 的活性（图 17-26）。这样，在胚胎细胞有丝分裂末期 M-cyclin 的降解很快会导致 APC 的失活。在快速胚胎细胞周期中这是一个有效的调控方法，有丝分裂期后 APC 的快速失活使细胞立刻开始下一轮循环，积累新的 M-cyclin［图 17-28 (A)］。

但是在含有 G_1 期的细胞周期中，有丝分裂期后立刻快速积累 cyclin 没有意义。在这类周期中，细胞进入下一个 S 期的进程被 G_1 期延迟，以允许细胞进行生长并使细胞周期被胞外信号调控。这样，大多数细胞利用几种机制保证有丝分裂期后阻止 Cdk 的重新激活。一个机制是利用叫做 Hct1 的另一种 APC 激活蛋白，该蛋白质是 Cdc20 的相似物。虽然 Hct1 和 Cdc20 都集合并激活 APC，在一个重要方面它们是有差异的。尽管 Cdc20-APC 复合体可以被 M-Cdk 激活，Hct1-APC 复合体却会被 M-Cdk 抑制，M-Cdk 会直接磷酸化 Hct1。这一系列作用的结果是，在有丝分裂后期 Cdc20-APC 复合体起始 M-cyclin 的降解后，Hct1-Cdk 的活性增加。这样有丝分裂期后 M-cyclin 会继续降解，因为虽然 Cdc20-APC 的活性降低了，

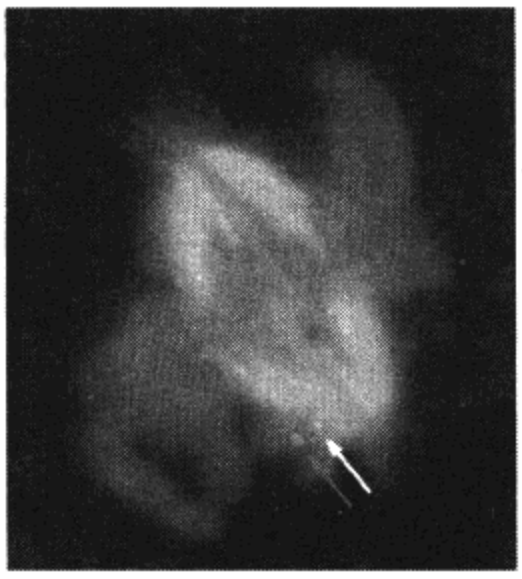


图 17-27　未结合着丝粒上的 Mad2 蛋白

这个荧光照片中显示的是一个处于前中期的哺乳动物细胞，细胞中有丝分裂纺锤体为绿色，姐妹染色单体为蓝色。一个姐妹染色单体对还没有结合到纺锤体上。在未结合染色体着丝粒上出现的 Mad2 蛋白被抗 Mad2 抗体标识（红色箭头所指的红色斑点）。另外的一个染色体刚结合到纺锤体上，在其着丝粒上仍有低水平的 Mad2 蛋白结合（白色箭头所指的浅色斑点）（摘自 J. C. Waters et al., *J. Cell Biol.* 141: 1181～1191, 1998. @ the Rockefeller University Press）

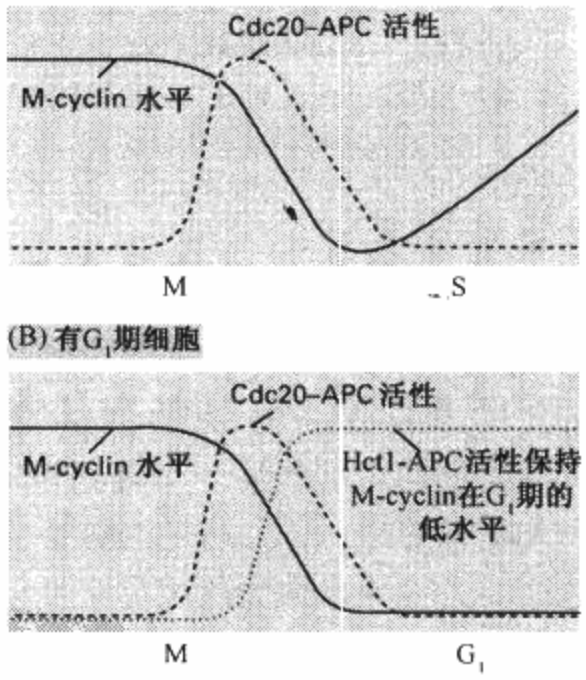


图 17-28　有丝分裂期后 Cdk 活性的稳定抑制开启 G_1 期

(A) 在早期胚胎细胞中，细胞中期结束时，Cdc20-APC 活性的升高诱发 M-cyclin 的降解。由于 M-Cdk 活性刺激 Cdc20-APC 的活性，M-cyclin 的丧失导致有丝分裂期后 APC 的失活，这将允许 M-cyclin 又开始积累。(B) 在含有 G_1 期的细胞中，在后有丝分裂期中，M-Cdk 活性的下降导致 Hct1-Cdk 的激活（还有 CKI 蛋白的积累，未显示）。这将保证有丝分裂期后完成 G_1 期所需的对 Cdk 活性的持续抑制

Hct1-APC 的活性依旧很高［图 17-28（B）］。

G_1 期抑制 Cdk 活性的第二种机制依赖于 CKI 合成的增加，CKI 是前面介绍过的一种 Cdk 抑制蛋白。在这种机制研究很清楚的芽殖酵母细胞中，含有一个叫做 Sic1 的 CKI 蛋白，它会在有丝分裂期后期和 G_1 期结合并使 M-Cdk 失活。像 Hct1 一样，在有丝分裂期 Sic1 会被 M-Cdk 磷酸化抑制。M-Cdk 还磷酸化抑制 Sic1 合成所需的一个基因调控蛋白，导致 Sic1 合成的降低。这样，Sic1 和 M-Cdk 就像 Hct1 和 M-Cdk 一样，互相抑制对方活性。结果是，在有丝分裂期后期，M-Cdk 活性的降低诱发 Sic1 蛋白的快速合成，同时，CKI 帮助确保有丝分裂期后 M-Cdk 的活性被稳定抑制。

在大多数细胞中，有丝分裂期后期 M-Cdk 的失活也是由 M-cyclin 基因转录的降低造成的。例如，在芽殖酵母中，作为正反馈的效应结果，M-Cdk 促进这类基因的表达。在细胞结束有丝分裂期后，这个途径被关闭：由 Hct1 和 Sic1 引起的 M-Cdk 失活会降低 M-cyclin 基因的转录，并因而降低 M-cyclin 的合成。

总之，Hct1-APC 激活、CKI 积累以及 cyclin 合成减弱一起确保早 G_1 期是一个 Cdk 活性被抑制的时期。正如在细胞周期调控的许多其他方面一样，多样调控机制的应用可以使抑制系统非常有力，从而使该系统即使在一个机制失败的情况下仍可以以适当的作用调控。

那么细胞是如何脱离这么稳定的 G_1 期而起始 S 期的呢？稍后我们将会讲到，脱离一般通过 G_1-cyclin 的积累发生。例如，在芽殖酵母中，这些 cyclin 不是 Hct1-APC 的降解靶标，而且不被 Sic1 抑制。结果是 G_1-cyclin 的积累导致 G_1-Cdk 活性的无抑制增加（图 17-29）。在哺乳动物细胞中，促进细胞增殖的胞外信号刺激 G_1-cyclin 的增加，我们将在后面讨论。

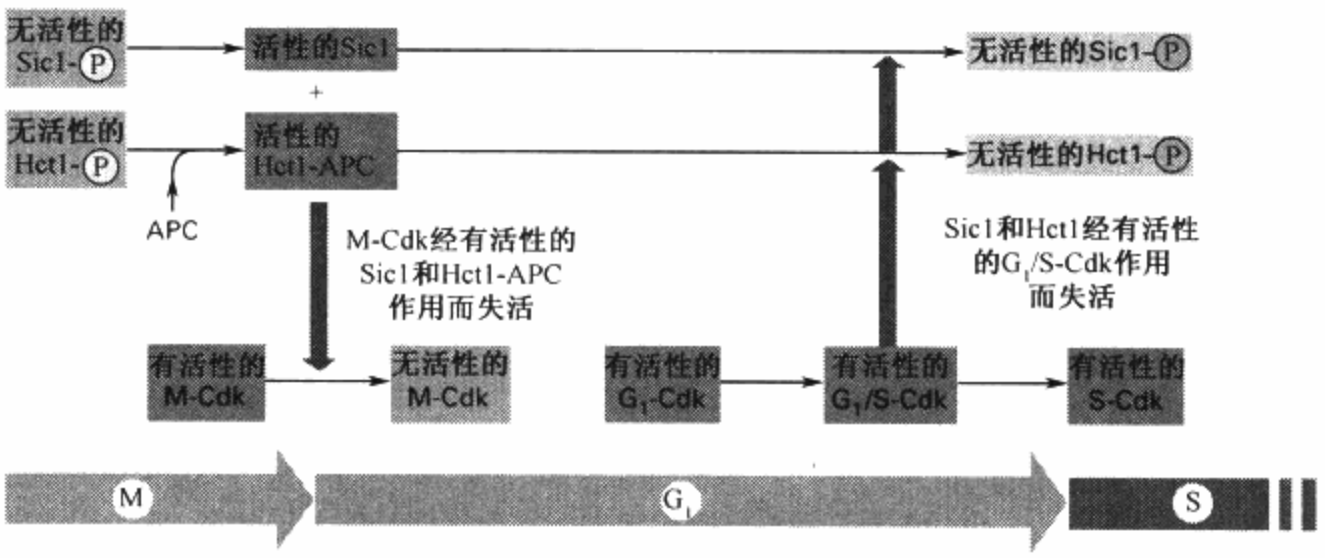


图 17-29　在裂殖酵母中 Cdk 活性对 G_1 期进程的控制

随着细胞脱离有丝分裂期并灭活 M-Cdk，由此产生的 Hct1 和 Sic1 活性的增强导致在 G_1 期中稳定的 Cdk 失活。当条件适合进入新的细胞周期时，G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk 活性的增加会通过磷酸化抑制 Sic1 和 Hct1，以使 S-Cdk 活性增加

在芽殖酵母中，G_1-Cdk 活性诱发 G_1/S-cyclin 基因的转录，导致 G_1/S-cyclin 合成和 G_1/S-Cdk 复合体形成的增加，这还对 Hct1-APC 和 Sic1 有抵抗作用。G_1/S-Cdk 活性的增加起始允许细胞进入 S 期的事件。G_1/S-Cdk 刺激 S-cyclin 基因的转录，导致 S-cyclin 的合成以及 S-Cdk 复合体的形成。这些复合体会被 Sic1 抑制，但是G_1/S-Cdk磷酸化并失活 Sic1，如此诱发 S-Cdk 的活性。G_1/S-Cdk和 S-Cdk 还磷酸化并失活 Hct1-APC。这样，在晚有丝分裂期诱发 M-Cdk 快速失活的同一反馈途径，在 G_1 期的末尾起相反的作用以保证 S-Cdk 活性的快速完全激活。

在哺乳动物 G_1 期细胞中 Rb 蛋白起控制开关作用

在癌细胞中，G_1 过程的控制和 S 期的起始常常被破坏，这会导致细胞进入无限的细胞周期和细胞繁殖（在第 23 章讨论）。为了开发更好的控制癌症增殖的方法，我们需要更好的了解在哺乳动物细胞中控制 G_1 进程的蛋白质。

在 G_1 期，动物细胞利用与早前所述的芽殖酵母相同的三种机制抑制 Cdk 活性：Hct1 激活、CKI 蛋白积累（哺乳动物细胞中的 p27）和抑制细胞周期蛋白基因的转录。与酵母相似，在晚 G_1 期 G_1-Cdk 复合体的激活会逆转所有的三种抑制机制。

在动物细胞中，对 G_1-Cdk 活性影响研究最清楚的是一个叫做 E2F 的基因调控蛋白。该蛋白质会结合一些基因的启动子上的特殊 DNA 序列，这些基因编码的蛋白质包括 G_1/S-cyclin 和 S-cyclin，是细胞进入 S 期所需要的。**E2F 的活性主要由与眼癌蛋白（retinoblastoma protein，Rb）**的相互作用控制，Rb 蛋白是一个细胞周期进程抑制子。在 G_1 期，Rb 与 E2F 结合并阻断 S 期基因的转录。当细胞被胞外信号诱发分裂时，活性 G_1-Cdk 会积累并磷酸化 Rb，降低其与 E2F 的结合能力。之后 Rb 会解离下来，以使 E2F 激活 S 期基因的表达(图 17-30)。

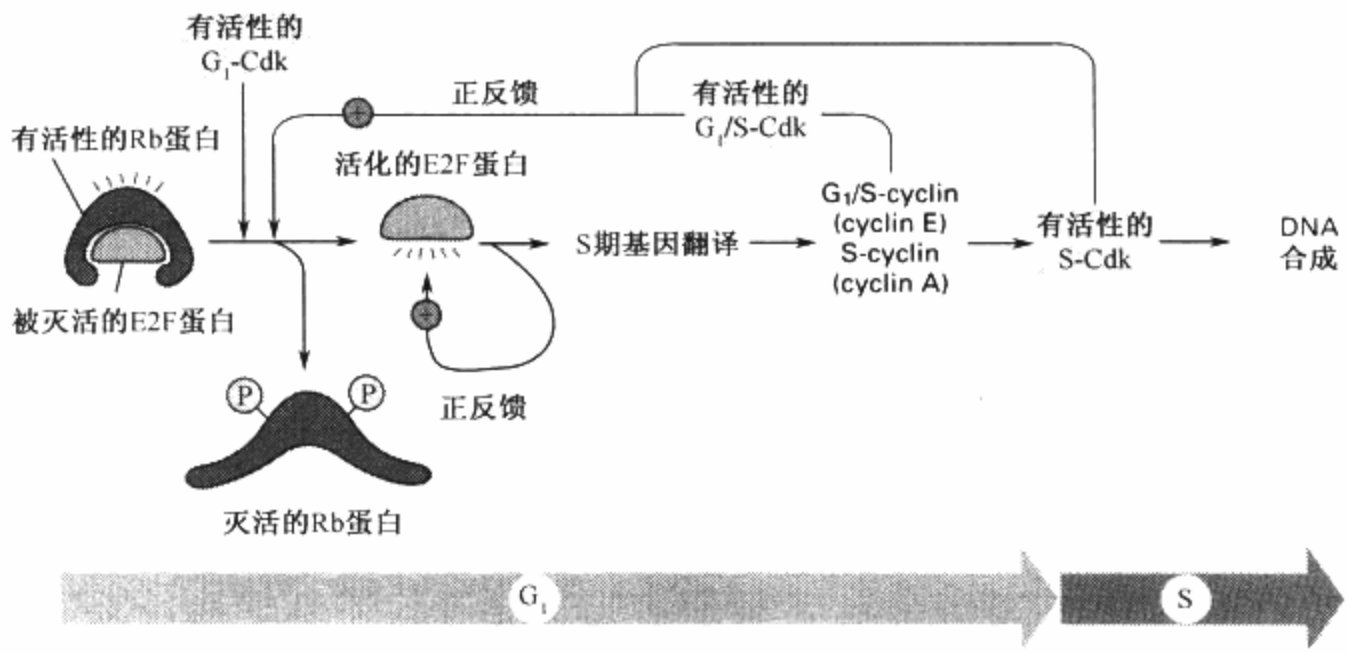


图 17-30　动物细胞中控制 S 期起始的机制

活性 G_1-Cdk（cyclin D-Cdk4）起始 Rb 的磷酸化。这会使 Rb 失活，释放的 E2F 会激活 S 期基因的转录，这些基因包括 G_1/S-cyclin（cyclin E）和 S-cyclin（cyclin A）的基因。由此产生的 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 进一步提高 Rb 的磷酸化，形成正反馈调节。E2F 返回刺激其自身基因的转录，形成另外一个正反馈调节

与其他许多调控细胞周期中的控制系统一样，这个转录控制系统包含有加速 G_1/S 期转换的反馈调节（图 17-30）：

E2F 的释放增加其自身基因的转录。

E2F 依赖的 G_1/S-cyclin 和 S-cyclin 基因的转录导致 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 活性的增加，这会反过来增加 Rb 的磷酸化并促进更多的 E2F 释放。

G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 活性的增加增强 Hct1 和 p27 的磷酸化，导致它们失活或者降解；与酵母细胞一样，所有这些相互作用会使 S 期起始所需要的 S-Cdk 复合体快速完全激活。

Rb 蛋白首先在对发生在儿童中的一种叫做眼癌（retinoblastoma）的遗传型眼睛癌症的

研究中被发现（第 23 章讨论）。缺失所有 Rb 基因的拷贝会导致细胞在未成熟视网膜中过量繁殖，表明 Rb 蛋白在视网膜发育过程中对限制细胞分裂速度非常重要。Rb 蛋白的完全丢失不会立即引发其他类型细胞增殖的增加，这部分是由于 Hct1 和 p27 帮助进行 G_1 期控制，另外一部分是因为其他类型细胞含有 Rb 相关蛋白，在 Rb 不存在的情况下提供补充支持。同时可能其他一些 Rb 非相关蛋白质也对调控 E2F 的活性提供帮助。

细胞周期进程以某种方式与细胞成长保持一致

为了使繁殖中的细胞保持一个相对恒定的体积，细胞周期的长短必须与其使细胞体积加倍所需的时间相匹配。如果周期事件比这个时间短，那么每次细胞分裂都会使细胞变小；如果周期时间比较长，那么每次分裂都会使细胞变大。由于细胞生长依赖于环境中的营养和生长信号，因而细胞周期必须能够随环境条件的变化进行调节（图 17-31）。还不清楚繁殖中的细胞如何协调其生长与细胞周期进程相一致，以保持其体积。

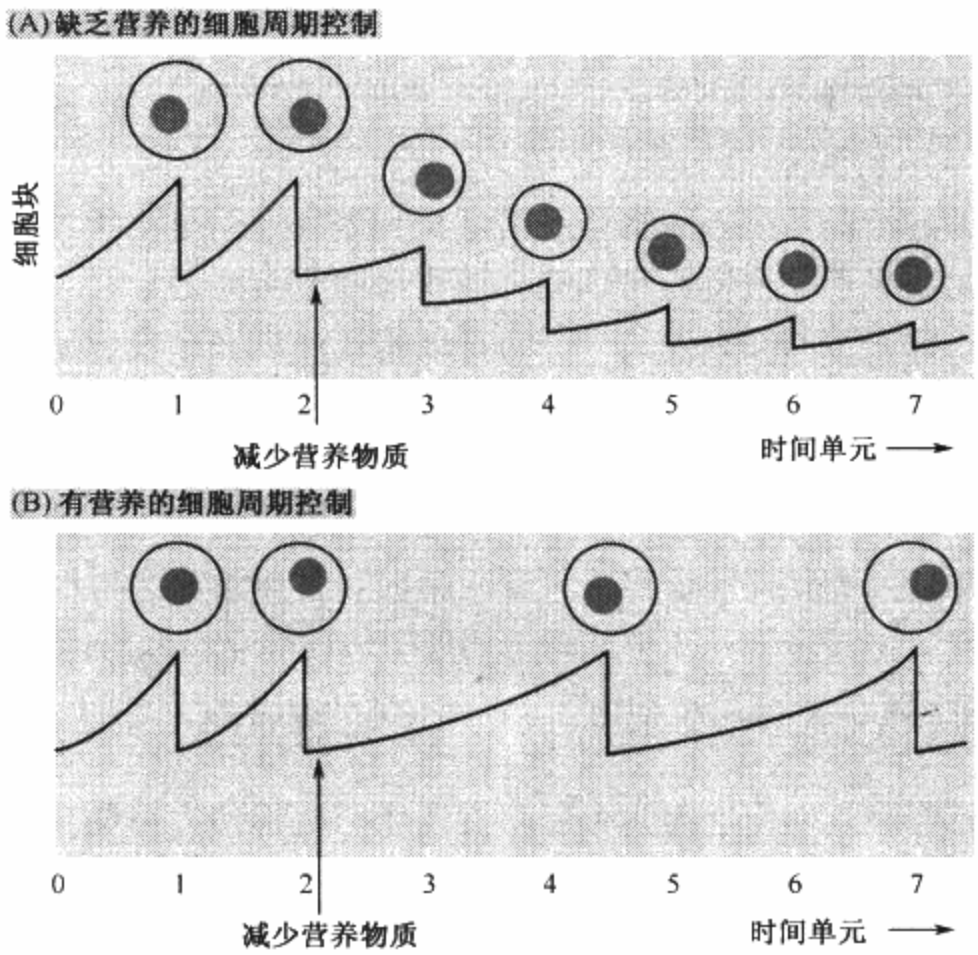


图 17-31　酵母通过控制细胞周期来控制细胞体积

图片显示生长速度、细胞体积和细胞周期时间之间的关系。（A）如果当细胞处于饥饿状态并停止生长时细胞继续进行分裂，每次分裂产生的子代细胞就会不断变小。（B）在缺失某些营养物质时，酵母细胞会通过减缓细胞周期进程速度的方式进行反应，以使细胞有更多的时间生长。结果使细胞体积保持不变或者稍微减小（一单位时间指的是营养足够时观测得到的细胞周期时间）

有证据表明，芽殖酵母通过监测一种叫做 **Cln3** 的 G_1 细胞周期蛋白（见表 17-1）的总量来协调其生长和细胞周期进程。由于 Cln3 随细胞的生长成比例合成，因而随着细胞的生长在其总量增加的同时，其浓度保持不变。如果人为增加 Cln3 的量，那么将会在比正常体积小的时候进行分裂；如果人为降低 Cln3 的量，那么细胞将会在比正常体积大的时期进行分裂。当 Cln3 的量达到一定起始域值时，细胞就允许自身进行分裂，这些实验结果与这种观点相一致。那么细胞为什么会监测 Cln3 的总量而不是其浓度的呢？一种可能是细胞遗传有含量稳定的一个抑制因子，这种抑制因子可以结合 Cln3 并抑制其活性。当 Cln3 的量超出其抑制子的

量时，多余的 Cln3 就会激活 G_1-Cdk 并开始一个新的细胞周期。由于所有细胞都获得一个稳定并等量的 DNA，因而推测 Cln3 可能就是 DNA 自身或者一些与 DNA 结合的蛋白质（图 17-32）。这个机制还可以揭示为什么在所有器官中细胞体积会与其倍数成比例（每个细胞中的核基因组的拷贝数）。

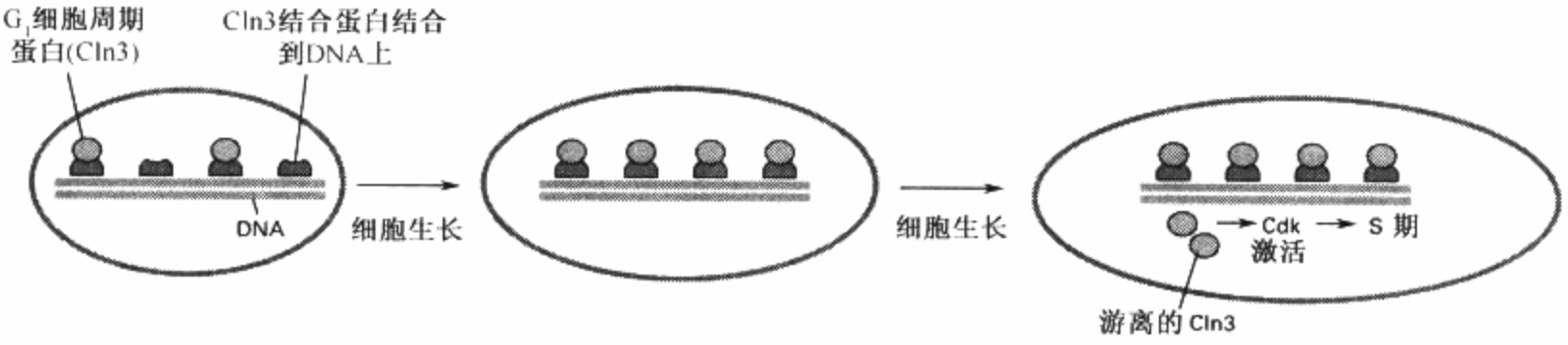


图 17-32　芽殖酵母协调其细胞生长和细胞周期进程模式图

细胞含有稳定数量的结合在 DNA 上的蛋白质（红色），同时这些蛋白质会结合并抑制 Cln3 分子（绿色）。随着细胞的生长，Cln3 分子的总量随细胞总蛋白质的增长不断增加。当细胞比较小时（左边），由于存在有过量的 Cln3 结合蛋白，所有的 Cln3 都是失活的。但是随着细胞的生长，它将达到一个 Cln3 分子数量与 Cln3 结合蛋白数量相同的临界点（中间）。当细胞超过这个体积时，游离的 Cln3 会结合 Cdk，这将会激活下一个细胞周期（右边）

虽然在营养足够的情况下酵母细胞会不断生长和繁殖，但是动物细胞一般只有在被来自其他细胞信号刺激的情况下才会生长和繁殖。动物细胞分裂时的尺寸至少部分依赖于这些可以独立调控细胞生长和繁殖的细胞外信号。动物细胞还可以完全使细胞生长和分裂脱离，因而可以生长而不分裂或者分裂而不生长。例如，许多动物的卵就可以在不分裂的情况下生长得非常大。在受精后，关系反了过来，细胞在不生长的情况下发生许多轮分裂（图 17-8）。这样，虽然通常情况下细胞生长和细胞分裂是一致的，但是它们可以被独立调控。细胞生长不依赖于细胞周期进程。当细胞周期进程被突变阻断时，酵母细胞会继续生长；同时包括神经元和肌细胞在内的许多动物细胞，在被从细胞周期中永远孤立出来的话都会生长得很大。

细胞周期进程被 DNA 损伤阻断以及 p53：DNA 损伤检测点

当染色体暴露到射线或者化学物质中后，染色体会被损伤。当染色体被损伤时，细胞在试图对它们进行复制或者分裂前对它们进行修复非常重要。细胞周期控制系统可以很容易地在 **DNA 损伤检测点**检测到 DNA 损伤并阻断细胞周期。大部分细胞至少有两个这样的检测点——一个在晚 G_1 期，这个检测点阻断进入 S 期，另一个在晚 G_2 期，这个检测点将阻断进入有丝分裂期。

前面讲到一种反应机制在 DNA 复制不完全时会延迟进入有丝分裂期，G_2 期检测点也依赖于一种类似机制。例如，当 G_2 期细胞被暴露到射线损伤中时，损伤的 DNA 会对一系列蛋白质发送信号磷酸化并失活磷酸化酶 Cdc25。这会阻断 M-Cdk 的脱磷酸化和激活，这样阻断进入有丝分裂期。当 DNA 损伤被修复后，抑制信号被关闭，同时细胞周期进程恢复。

G_1 期检测点通过抑制 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 复合体的激活阻断进入 S 期的进程。例如，在哺乳动物细胞中，DNA 损伤会激活基因调控蛋白 **p53**，该蛋白质会诱发一些基因的转录。其中的一个基因编码一个叫做 **p21** 的 CKI 蛋白，该蛋白质会结合 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 并抑制它们的活性，由此帮助阻断进入 S 期。

DNA 损伤通过独立的机制激活 p53。在非损伤细胞中，p53 高度不稳定并以非常低的浓度存在。这是因为它会结合另外一个蛋白质——**Mdm2**，Mdm2 会作为泛素连接酶使 p53 成

为蛋白酶体降解的靶标。DNA 损伤激活磷酸化 p53 的蛋白激酶并因此降低其与 Mdm2 的结合。这将降低 p53 的降解，导致细胞中 p53 浓度的显著增加。另外，与 Mdm2 结合的降低还提高了 p53 诱发基因转录的能力（图 17-33）。

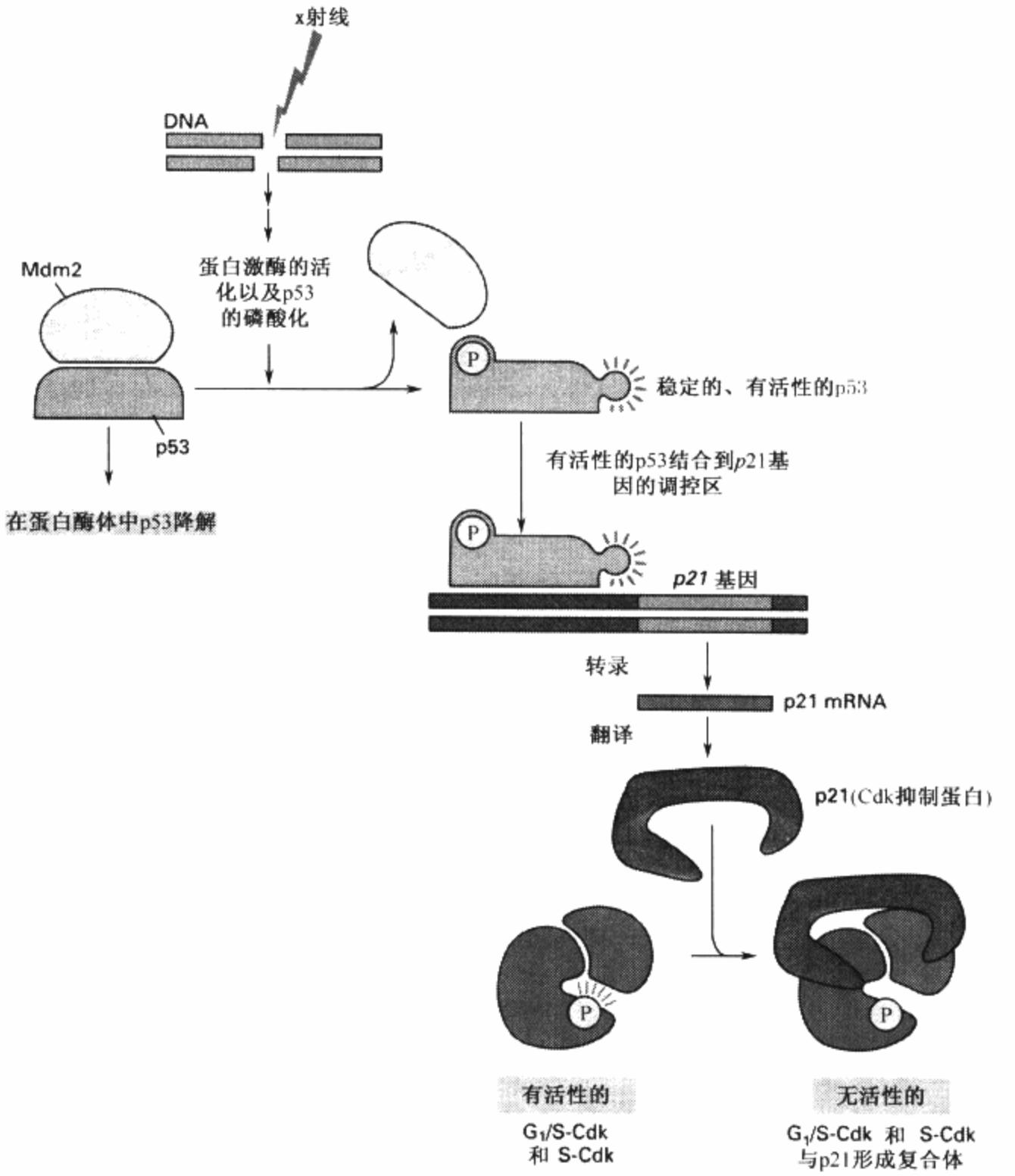


图 17-33　在 G_1 期 DNA 损伤如何抑制细胞周期

当 DNA 被损伤时，磷酸化 p53 的蛋白激酶被激活。一般情况下，Mdm2 结合 p53 并促进其泛素化和在蛋白酶体中的降解。p53 的磷酸化阻断了其与 Mdm2 的结合。结果是 p53 高水平积累并刺激编码 CKI 蛋白 p21 的基因的转录。p21 结合并激活 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 复合体，阻断 G_1 期细胞。在一些情况下，DNA 损伤还诱发 Mdm2 的磷酸化或者 Mdm2 合成的减少，这将会诱发 p53 的增加（未显示）

与许多其他检测点一样，对于普通细胞分裂来说，当环境条件理想时，DNA 损伤检测点并不重要。但是条件很少非常理想：在任何细胞的普通生命中都会发生低水平的 DNA 损伤，而且，如果检测点不起作用的话，这个损伤会在细胞繁殖中积累下来。长期下去，在缺乏检测点细胞中的遗传损伤的积累会导致癌变积累的增加。实际上，在至少一半的人类癌症中发生了 p53 基因的突变（在第 23 章讨论）。p53 功能缺失时癌细胞更容易积累突变。与之相类

似，有一种罕见的被称为 ataxia telangiectasia 的遗传病是由一种蛋白激酶的失活引起的，这种蛋白激酶会磷酸化和激活 p53 基因，以使其对 X 射线诱发的 DNA 损伤做出反应；由于 DNA 损伤检测点的缺失，患有这种疾病的患者对 X 射线非常敏感，因而他们患癌的概率也增加。

如果 DNA 损伤非常严重以至于不可能进行修复时会怎样？在这种情况下，不同的机体会做出不同的反应。像芽殖酵母一样的单细胞机体会暂时抑制它们的细胞周期修复损伤。如果损伤不能修复，即使在存在损伤的情况下，细胞周期也会重启。对于一个单细胞生物来说，突变的生命明显也要比根本没有生命好。但是，对于多细胞生物来说，整个机体的健康要优先于单个细胞的生命。伴随严重 DNA 损伤进行分裂的细胞会威胁机体的生命，因为遗传损伤经常会导致癌症和其他致死性疾病。这样，DNA 严重损伤的动物细胞不会试图继续分裂，而是通过程序性细胞死亡或者凋亡的方式进行自杀，这将会在下一节讨论。在这个路径中，死亡的决定也依赖于 p53 基因的激活，同时正是 p53 的这个功能对保护我们抵抗癌症非常重要。

作为小结，表 17-2 总结了主要的细胞周期调控蛋白，在图 17-34 中列出了细胞周期控制系统的总的框架。

表 17-2　主要的细胞周期调控蛋白小结

基因名称	功能与注释
修饰 Cdk 的蛋白激酶和蛋白磷酸酶	
Cdk-激活激酶（CAK）	磷酸化 Cdk 上的一个活性位点
Wee1 激酶	磷酸化 Cdk 上的抑制位点，主要参与控制进入有丝分裂期
Cdc25 磷酸酶	去除 Cdk 上的抑制磷酸盐；在哺乳动物中有三个家族（Cdc25A、Cdc25B、Cdc25C）；在有丝分裂起始时 Cdc25C 是 Cdk1 的激活子
Cdk 抑制蛋白（CKI）	
Sic1（芽殖酵母）	在 G_1 期抑制 Cdk 活性；Cdk1 对该基因的磷酸化会诱发该蛋白的降解
p27（哺乳动物）	在 G_1 期抑制 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 的活性；当细胞最终分化后，帮助细胞脱离细胞周期；Cdk2 对其的磷酸化会导致该蛋白质被 SCF 泛素化
p21（哺乳动物）	在 G_1 期发生 DNA 损伤时抑制 G_1/S-Cdk 和 S-Cdk 活性；由 p53 转录激活
p16（哺乳动物）	在 G_1 期抑制 G_1-Cdk 活性；在癌细胞中通常失活
泛素连接酶及其激活因子	
SCF	催化参与 G_1 期控制的调控蛋白的泛素化，这些蛋白质包括 CKI（芽殖酵母中的 Sic1，哺乳动物中的 p27）；该活性经常需要目的蛋白的磷酸化
APC	催化主要参与离开有丝分裂期的调控蛋白的泛素化，包括 Securin 和 M-cyclin；由与激活亚基的结合调控
Cdc20	在所有细胞中都是 APC 激活亚基；在中期到后期转换点处诱发 APC 的起始激活；由 M-Cdk 活性激活
Hct1	在后期之后和整个 G_1 期维持 APC 的活性；被 Cdk 的活性抑制
基因调控蛋白	
E2F	促进 G_1/S 进程所需基因的转录，这些基因包括 G_1/S cyclins、S-cyclin 以及 DNA 合成所需蛋白质；当 G_1-Cdk 对胞外分裂素做出反应磷酸化 Rb 时，E2F 被激活
p53	促进编码诱导细胞周期抑制的基因（尤其是 p21）和对 DNA 损伤或者其他细胞胁迫反应进行凋亡的基因的转录；通过与 Mdm2 的结合被调控，这将会促进 p53 的降解

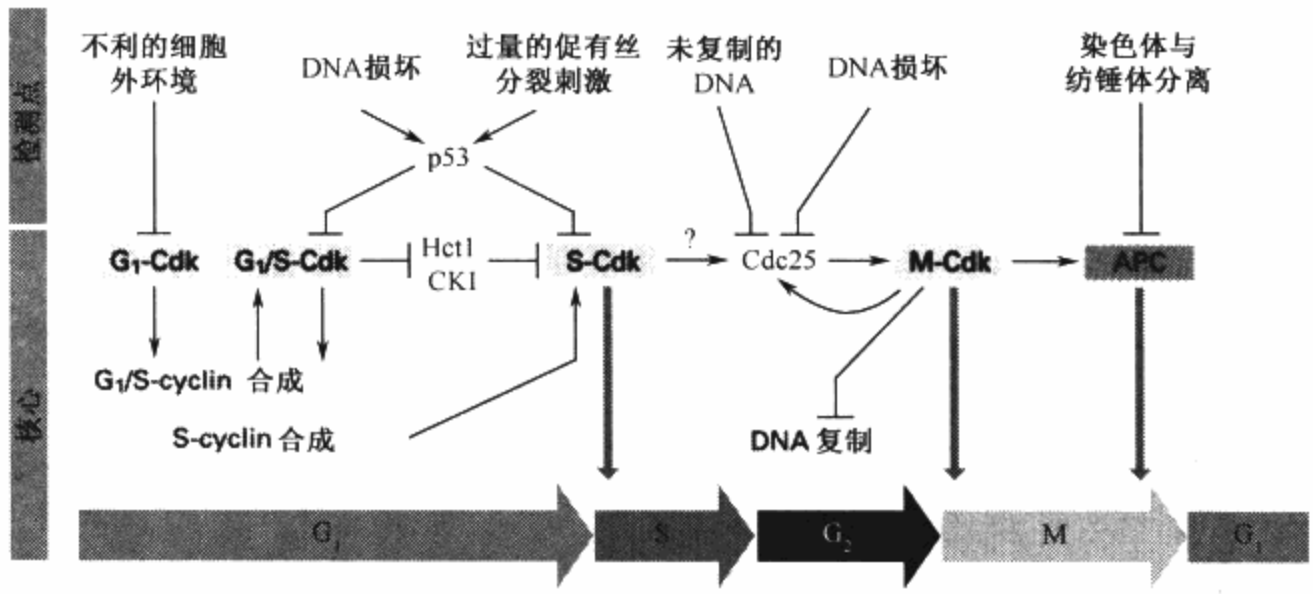


图 17-34　细胞周期控制系统概述

细胞周期控制系统的核心是一系列 cyclin-Cdk 复合体（黄色）。各个复合体的激活还受各种抑制检测点机制影响，这些检测点将提供包括胞外环境、细胞损伤和不完全细胞周期事件（上面）等各种信息；并不是在所有细胞中都会出现这些机制；如在早期胚胎细胞周期中，许多机制都会缺失

小结

一系列程序性的 cyclin-Cdk 行为激活细胞周期中的大部分事件。在 G_1 期，Cdk 的活性被 Cdk 抑制子（CKI）、cyclin 蛋白质水解和降低 cyclin 基因转录降到最低。当环境条件有利时，在晚 G_1 期，G_1-和 G_1/S-Cdk 的浓度增加，克服这些抑制子的阻碍，并诱发 S-Cdk 的激活。S-Cdk 磷酸化 DNA 复制起点处的蛋白质，通过一种机制起始 DNA 合成以保证每个细胞周期中 DNA 只复制一次。

一旦 S 期完成，M-Cdk 的激活会诱发有丝分裂早期事件，由此细胞组装一个有丝分裂纺锤体并准备复制好染色体的分离，复制好的染色体含有结合在一起的姐妹染色单体。黏合姐妹染色单体结合的蛋白质的降解会诱发后期的到来。之后 M-Cdk 会被 cyclin 蛋白酶解失活，这将会导致细胞质的分裂以及 M 期的结束。细胞周期进程被各种抑制机制调控，在事件没有被成功完成、DNA 损伤发生或者当胞外信号不合适时，这些抑制机制会在特定的检测点阻止细胞周期。

程序性细胞死亡（细胞凋亡）

多细胞机体中的细胞是高度组织群体中的组分。这个群体中的细胞数量是被严密控制的——不仅仅是被细胞分裂速度控制，还被细胞死亡速度控制。如果不再需要这些细胞，那么它们将通过激活细胞内死亡机制进行自杀死亡。这种机制也因而被称为**程序性细胞死亡（programmed cell death）**，不过也经常被称为**凋亡（apoptosis）**（源于一个意思是跌落的希腊词，就像树叶从树上落下一样）。

在发育和成年动物组织中发生凋亡的量是惊人的。例如，在发育中的脊椎动物神经系统中，通常接近一半或者更多的神经细胞会在它们形成之后不久就死亡。在健康成年人体中，每小时会有数亿的细胞在骨髓和肠中死去。看起来这么多的细胞死亡似乎是很大的浪费，尤其是大部分细胞在自杀时还非常健康。这么大量细胞死亡的用途是什么呢？

在某些情况下，答案很清楚。例如，老鼠的爪子在胚胎发育期是通过细胞死亡分割的：开始时爪子是铲形的，只有在趾之间的细胞死亡后，单个的脚趾才能分开（图 17-35）。在另外一些情况下，在所形成的结构不再需要时，细胞也会死亡。在蝌蚪变成青蛙时，尾部的细胞死亡，同时青蛙所不需要的尾巴也会消失（图 17-36）。在更多的其他情况下，细胞死亡帮助调控细胞数量。例如，在发育中的神经系统中，细胞死亡调控神经细胞与其需要调控的靶细胞数量匹配。在所有这些情况下，细胞通过凋亡灭亡。

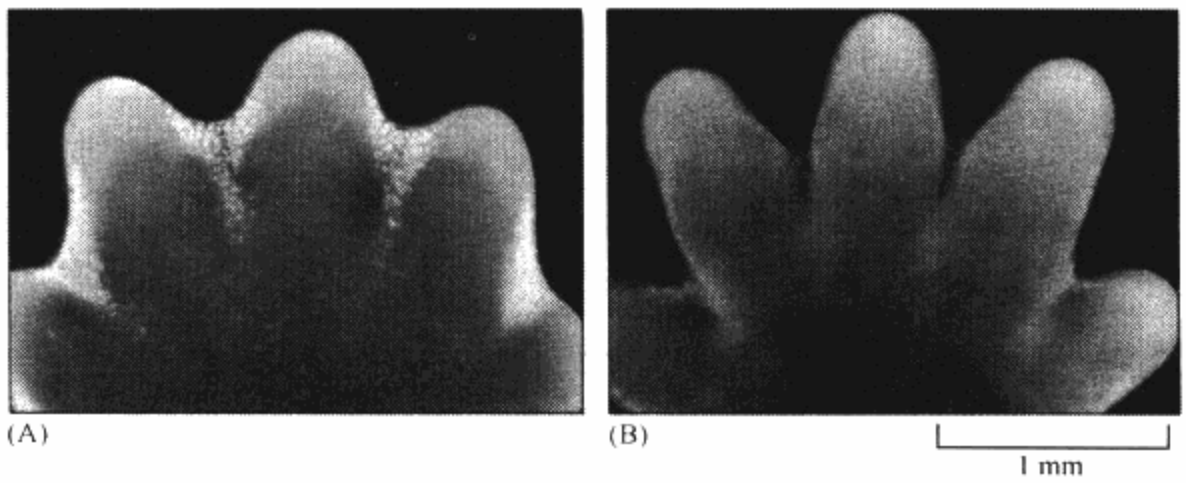


图 17-35　发育中的老鼠爪子通过凋亡分开脚趾

（A）小鼠胚胎的爪子被一种特异标记发生凋亡细胞的染料染色。凋亡细胞在发育中的脚趾之间以绿色亮点出现。（B）这种脚趾间的细胞死亡会除去发育中的脚趾之间的组织，正如上面看到的那样，一天之后只能看到很少或者看不到凋亡细胞（摘自 W Wood et al.，*Development* 127：5245～5252，2000. @ the Company of Biologists）

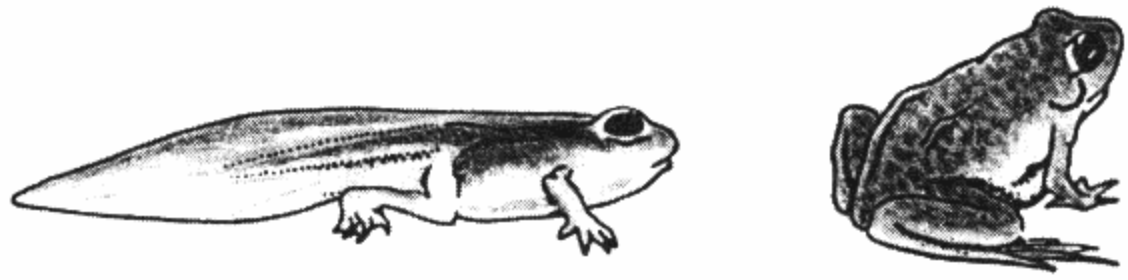


图 17-36　从蝌蚪到青蛙变形期的凋亡

当蝌蚪变成青蛙时，蝌蚪尾部的细胞被诱导进行凋亡；结果是尾部丢失。变形期所发生的包括诱发尾部凋亡在内的所有变化，都是由血液中甲状腺激素的增加诱发的

在成年组织中，细胞死亡与细胞分裂严密平衡。如果不是这样的话，组织将会增大或者皱缩。例如，在成体大鼠中，如果切除一部分肝脏的话，肝脏细胞增殖将会增加以弥补损失。相反，如果用药品苯巴比妥米那（将会刺激肝脏细胞分裂，从而使肝脏扩大）处理大鼠时，之后停止苯巴比妥米那的处理，那么肝脏中的凋亡会大大增加直到其体积恢复原始尺寸，这经常会持续一周左右。这样，肝脏通过调控细胞死亡和细胞出生速度保持稳定的体积。

在这一个短节中，我们介绍凋亡和其控制的分子机制。在最后一节，我们将思考在多细胞机体中胞外的细胞增殖和死亡控制如何帮助调控细胞数量。

凋亡由细胞内蛋白水解激酶介导

细胞迅速发生膨大和暴裂导致死亡。它们溢出的包含物包围其临近细胞——一个称为坏

死的过程，会引起潜在的炎症反应。相比之下，经由凋亡死亡的细胞很干净，对周围的细胞不造成损伤。细胞收缩并浓缩，细胞骨架崩溃，核膜解体，同时 DNA 降解成小片段。最重要的是细胞表面发生改变，引起将要死亡的细胞展示性状以使其更容易在任何其包含物泄漏发生前被临近细胞或者被巨噬细胞（一种特殊的吞噬细胞，在第 24 章讨论）吞噬(图 17-37)。这不仅避免由细胞坏死引发的损伤，还使死亡细胞的组织元件被吞噬它的细胞回收。

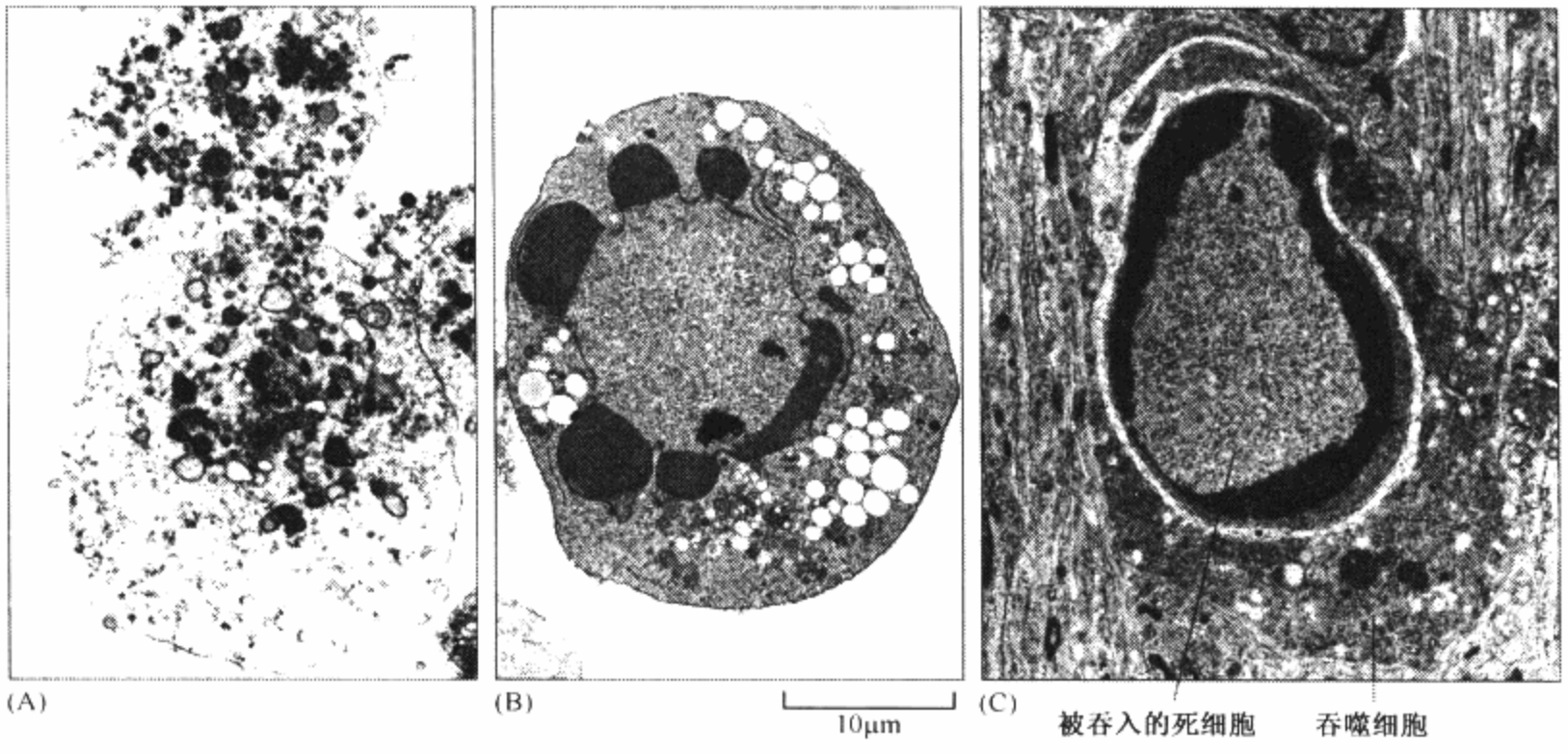


图 17-37　细胞死亡

这些电镜显微照片表明细胞死亡的原因：（A）坏死或（B）和（C）凋亡。（A）和（B）中的细胞在培养盘中死亡，而（C）中的细胞在发育组织中死亡并被临近细胞吞入。注意（A）中的细胞看起来破裂了，而（B）和（C）中的则是浓缩并相对完整的。（B）中细胞的细胞质内缩，看到的空泡是凋亡的可见特征（经 Julia Burne 许可）

在所有动物细胞中，凋亡反应的机制似乎都相同。该机制依赖于一个在其活性位点有一个半胱氨酸并在特定天冬氨酸位点切割靶蛋白的蛋白酶家族。它们因而被称为半胱氨酸依赖的**天冬氨酸蛋白酶（caspase）**。caspase 在细胞中以非激活前体或者前 caspase（procaspase）的形式存在，这些前体会被其他的 caspase 在特定位点切割激活［图 17-38（A）］。一个 caspase 一旦被激活就会切割激活其他 procaspase，产生一个蛋白质水解级连放大反应(图 17-38B)。之后，一些激活的 caspase 剪切细胞中的其他关键蛋白质。例如，一些 caspase 切割核纤层，导致核纤层无法挽回的崩溃；另外一个切割一种通常控制一个 DNA 降解酶（DNAse）处于失活状态的蛋白酶，自由的 DNA 酶将切割细胞核中的 DNA。这样细胞就会快速干净地分解自己，同时其尸体会被另一个细胞快速吞入并降解。

就像进入一个新的细胞周期一样，细胞内死亡途径也常常以完全的有或者无的方式被诱发。caspase 蛋白酶不仅仅具有破坏性并自我扩增，同时也是无法逆转的。这样，一旦细胞达到允许进入降解的关键点，就无法折返。

procaspase 通过与适配蛋白结合激活

所有的有核细胞都包含有它们自身降解的种子，它们以各种非活性 procaspase 的形式存在，等待破坏细胞的信号。这样也就不奇怪为什么在细胞内 caspase 的活性在其被需要前会被严格调控以保证致死进程被控制阻断。

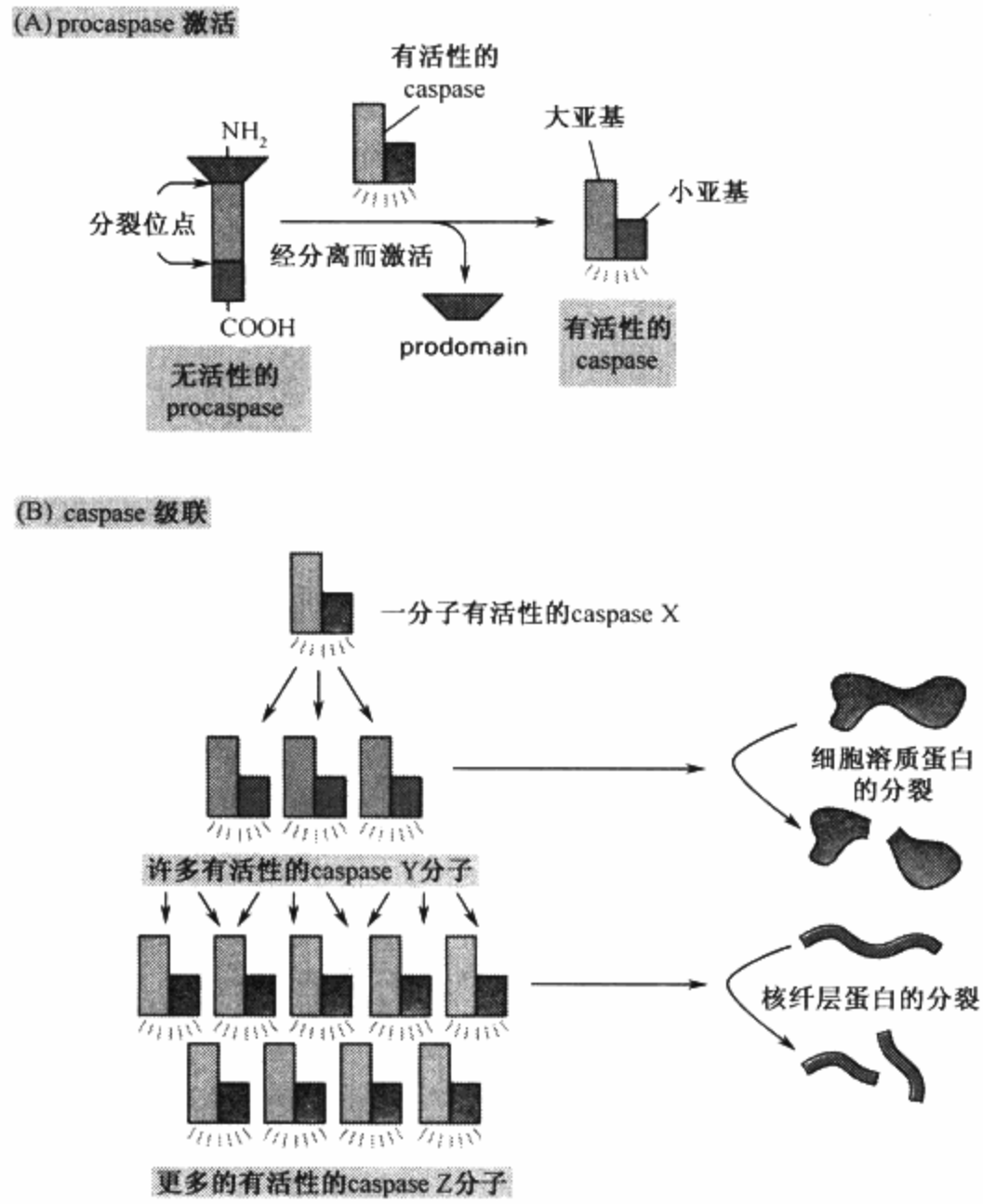


图 17-38　参与凋亡的 caspase 激酶

（A）每一个自杀蛋白酶都会以失活酶前体（procaspase）的形式合成，酶前体通常会被另一类 caspase 蛋白水解激活。如图所示，切割出来的两个片段结合形成 caspase 活性位点。活性酶被认为是由两个这种蛋白单位形成的四聚体（未显示）。（B）每一个激活的 caspase 分子都会切割许多 procaspase 分子来激活它们，这些分子会激活更多的 procaspase 分子。这样一开始激活的少量 procaspase 分子（称为起始 caspase）会经由级连放大反应（层叠式的），以爆炸式激活大量的 procaspase 分子。之后，一些激活的 caspase（被称为效应 caspase）切割细胞中的许多关键蛋白，这些蛋白质包括特定的胞质蛋白和核纤层，导致细胞的可控死亡

procaspase 是如何激活起始 caspase 途径的呢？大概的机制是活性被**适配蛋白（adaptor protein）**激活，该蛋白质会召集许多被称为起始 procaspase（initiator procaspase）的特定 procaspase 紧密结合形成一个复合体或者集合体。在某些情况下，起始 procaspase 具有少量的蛋白酶活性，将它们压迫集合到一起形成复合体会引起它们的互相切割，诱发它们的相互激活。在另外一些情况下，集合被认为会诱发构象的改变，这将会激活 procaspase。很快，途径顶端被激活的 caspase 就切割下游 procaspase，扩大死亡信号并传播到整个细胞［图 17-38（B）］。

procaspase 可以通过激活细胞表面的死亡受体由细胞外激活。例如，杀手淋巴细胞（在第 24 章讨论）可以产生一个叫做 Fas ligand 的蛋白质，该蛋白质通过与在靶细胞表面死亡受体蛋白 Fas 的结合诱发凋亡。之后，簇合的 Fas 蛋白招募细胞内的受体蛋白，结合并聚合

caspase-8 分子，这些分子会相互切割激活。随后激活的 caspase-8 分子激活下游的 caspase 诱导凋亡［图 17-39（A）］。一些胁迫或损伤的细胞自身既产生 Fas ligand 又生成 Fas，这样诱导细胞内 caspase 途径杀死自身。

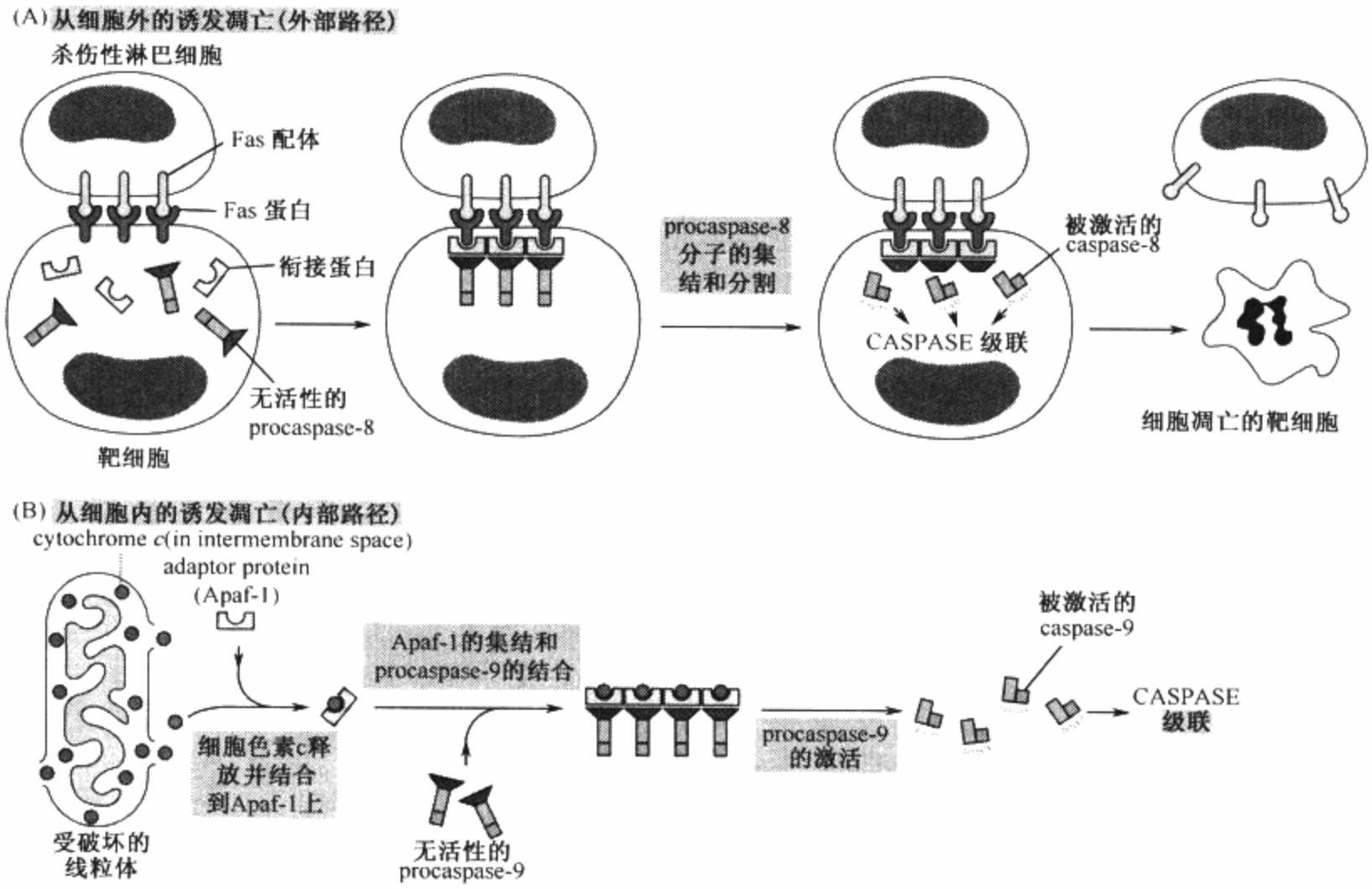


图 17-39　细胞内或者细胞外刺激诱发凋亡

（A）胞外激活。杀伤性淋巴细胞携带有 Fas ligand 结合并激活靶蛋白表面的 Fas 蛋白。结合在 Fas 胞内区域的受体蛋白引起 procaspase-8 分子的聚集。之后它们会互相切割起始 caspase 通路。（B）胞内激活。线粒体释放细胞色素 c，它会结合并诱发受体蛋白 Apaf-1 的聚合，Apaf-1 结合并聚合 procaspase-9 分子，这将导致这些分子的切割并诱发 caspase 通路。其他协助凋亡的蛋白质也会从线粒体膜间隙释放（未显示）

当细胞受损或者受到胁迫时，它们还可以通过在细胞内诱导 procaspase 聚合激活自杀。研究最清楚的途径是线粒体被诱发将携带电荷的细胞色素 c（cytochrome c）蛋白（图 14-26）释放到细胞质中，在那里，它们结合并激活叫做 **Apaf-1** 的受体蛋白［图 17-39（B）］。大部分形式的凋亡都会激活这种线粒体通路的 procaspase，以起始或者加速和扩大 caspase 通路。例如，像前面讨论的 DNA 损伤就能诱发凋亡。这个反应经常会需要 p53，它可以激活编码促进细胞色素 c 从线粒体释放的蛋白质的转录。这些蛋白质属于 Bcl-2 家族。

Bcl-2 家族蛋白和 IAP 蛋白是细胞死亡程序中的主要细胞内调控因子

细胞的 **Bcl-2 家族**帮助调控 procaspase 的激活。这个家族中的一些成员，如 Bcl-2 自身或者 Bcl-XL，通过阻断细胞色素 c 从线粒体的释放至少可以部分抑制凋亡。Bcl-2 家族的其他组分不是死亡抑制因子，相反会促进 procaspase 激活和细胞死亡。其中的一些凋亡促进因子（如 Bad）通过结合该家族中死亡抑制成员并使之失活而起作用，而其他成员（如 Bax 和 Bak）激活细胞色素 c 从线粒体中的释放。如果编码 Bax 和 Bak 的基因都失活的话，细胞会

对大部分凋亡诱发因子具有显著的抗性，说明这类蛋白质在凋亡诱发中的重要性。与 Bid 类似的 Bcl-2 家族的其他凋亡促进成员会激活 Bax 和 Bak。

凋亡抑制因子（inhibitor of apoptosis，IAP）家族是另外一类重要的胞内凋亡的调控因子家族。这些蛋白质被认为以两种方法抑制凋亡：它们可以与一些 procaspase 结合阻断它们的激活，它们还可以结合 caspase 抑制其激活。刚开始人们发现一些昆虫病毒编码的 IAP 蛋白，这些病毒利用 IAP 阻止感染细胞在病毒有足够时间复制前自杀。当线粒体释放细胞色素 c 激活 Apaf-1 的同时，它们还释放一类蛋白质阻断 IAP，这样大大提高死亡激活作用的效果。

细胞内死亡进程还被胞外信号调控，胞外信号可以激活或者抑制凋亡。信号分子主要调控 Bcl-2 和 IAP 家族成员的水平或者活性发挥作用。下一节我们将认识这些信号分子如何帮助多细胞机体调控它们的细胞数量。

小结

在多细胞机体中，不再需要或者对机体造成威胁的细胞被一种严密调控的细胞自杀程序破坏，这类进程被称为程序性细胞死亡或者凋亡。凋亡被一类称为 caspase 的蛋白水解酶通过在细胞质和细胞核内切割特定蛋白质完成。在所有细胞内，caspase 都以失活的前体或者 procaspase 的形式存在，这些前体通常由其他 caspase 切割激活形成一个蛋白质水解 caspase 通路。胞内或者胞外死亡信号会引起胞内受体分子聚集并激活 procaspase，诱发通路的开启。Bcl-2 和 IAP 蛋白家族成员调控 caspase 的活性。

胞外的环境控制细胞的分裂、生长和凋亡

一个小鼠的受精卵和一个人的受精卵的体积是相似的，但是它们所产生的动物的大小却是截然不同的。是什么因子控制了细胞的行为从而造成了人类和小鼠的体积的差异？这样的问题可以适用到动物身体的每个器官和组织中。什么因素控制的细胞行为决定了象鼻的长度或者是其大脑和肝脏的体积？这些问题多数都没有解决，至少部分是因为与细胞和发育生物学相比较，它们并没有引起足够的重视。不过，确定是何种成分在起作用还是可能的。

一个器官或者组织的体积主要取决于其总共的细胞群体，这包括细胞的数量以及细胞的大小。细胞的数量又取决于发生细胞分裂和细胞凋亡的总数。因此，器官和身体的体积主要取决于三个基本的过程：细胞生长、细胞分裂和细胞凋亡。每一种都是独立地被调节——包括胞内的程序和调控这些胞内事件的胞外的信号分子。

调节细胞体积和数量的胞外信号分子可能是可溶性的分泌蛋白、结合到细胞表面的蛋白质或者是胞外基质的组分。启动组织和有机体生长的因子可以分为三种主要的类型：

有丝分裂原，它主要是通过解除阻碍细胞周期进程的细胞内负调控而刺激细胞分裂。

生长因子，它通过促进蛋白质和其他生物大分子的合成以及抑制它们的降解来促进细胞的生长（细胞群体的增加）。

生存因子，它通过抑制细胞凋亡来促进细胞的生存。

一些胞外信号分子可以促进所有的这三种过程，而有一些促进一种或两种。实际上，生长因子这个词经常会被不恰当地用来描述这些有任何一种活性的分子。更严重的是，细胞生长这个词常被用来指细胞数量的增加或者细胞增殖。

在这个部分，我们首先讨论胞外的信号分子如何促进细胞分裂、细胞生长以及细胞的生存，而这些会促进一个有机体和其器官的生长。接下来我们会考虑其他的信号分子怎么产生

相反的作用来抑制细胞的生长和分裂或者刺激细胞凋亡的发生，从而来抑制器官形成。

有丝分裂刺激细胞分裂

单细胞生物的生长和分裂都是非常快的，它们增殖的速度主要取决于环境中可被利用的营养物质。但是，多细胞生物的细胞只有在有机体需要更多的细胞时才会发生分裂。因此，一个动物细胞要增殖，只有营养是远远不够的。它必须以有丝分裂的方式从其余细胞，通常是相邻的细胞中接受细胞外的刺激信号分子。有丝分裂原作用的原理主要是克服细胞内的一些阻碍细胞周期进程的机制。

血小板来源的生长因子（platelet-derived growth factor，PDGF）是第一批被鉴定的有丝分裂原中的一个，从发现以来它都是非常典型的一个有丝分裂原。它的发现主要是观察到在培养板上，成纤维细胞在含有血清的培养基中会增殖，而在含有血浆的培养基中没有这种现象。血浆是在不发生血凝集的条件下自血液中去掉血细胞而获得的，而血清是通过血液的凝集而获得的无细胞液体。当血液凝集，血小板形成凝集块而释放其分泌泡内的内含物（图 17-40）。血清高效的支持细胞增殖的能力表明血小板含有一个或多个有丝分裂原。通过血小板的抽提物可以代替血清促进成纤维细胞增殖这一事实，这个假说得到了证实。抽提物中的重要因子是一种蛋白质，其被纯化后命名为 PDGF。在体内，从血液凝集块中释放的 PDGF 可能在伤口复原的过程中刺激细胞分裂而起重要作用。

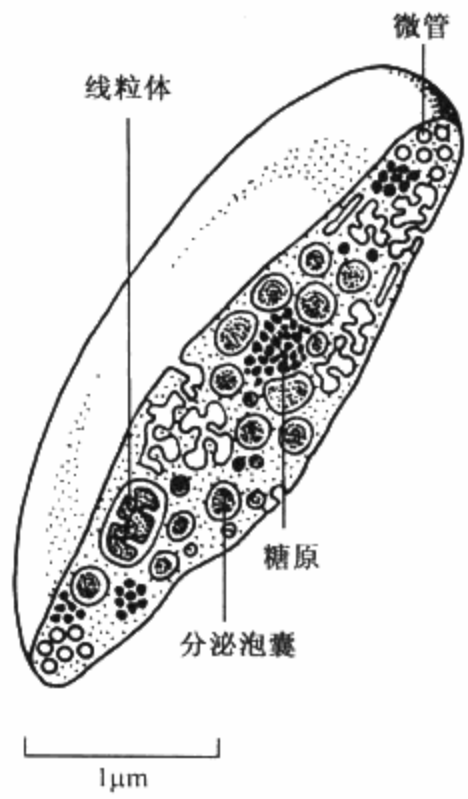


图 17-40　血小板

血小板是没有细胞核的小型细胞。它们在血液中运动来帮助在损伤的组织部位刺激血液凝集而来抑制流血。它们同时也释放很多因子来促进康复。这里所示的血小板是被切掉一半的，以显示其分泌囊泡，其中一些包括 PDGF，见图 16-47（B）~（D）

PDGF 只是发现的 50 多种有丝分裂原中的一种。大多数这类蛋白质具有广泛的特异性，如 PDGF 和表皮生长因子（epidermal growth factor，EGF），可以促进很多多种类型细胞的分裂。因此，PDGF 作用于广泛的细胞类型，包括成纤维细胞、平滑肌细胞和神经胶质细胞。相似地，EGF 不仅作用于表皮细胞，也作用于很多其他细胞，包括上皮细胞和非上皮细胞。与之相反的是一些特异性非常窄的因子，如促红细胞生成素，它只能诱导血红细胞前体的增殖。

除了有丝分裂原可以刺激细胞分裂，还有一些因子，如转化生长因子-β（transforming growth factor-β，TGF-β）家族的一些成员，可以作用于一些细胞促进细胞增殖，而作用于另一些细胞却抑制细胞增殖。或者是在某些浓度下刺激细胞增殖，而在另外某些浓度下起抑制作用。实际上，如 PDGF 一样，很多有丝分裂原除了刺激细胞分裂以外还有别的作用：它们可以刺激细胞生长、生存、分化或者迁移，这依赖于环境和细胞的类型。

当细胞进入一个特殊的不分裂时期时，细胞会延迟分裂

在缺少有丝分裂信号促进细胞增殖时，细胞会维持 G_1 期被 Cdk 抑制的状态，而且细胞周期停止。在一些情况下，部分细胞会脱离其细胞周期控制系统而退出细胞周期，进入一个特殊的不分裂时期 $\mathbf{G_0}$。

我们体内的多数细胞处于 G_0 期，但是其分子机制和该时期的可逆性依赖于不同的细胞类型。如神经细胞和骨骼肌细胞，是处于终末分化 G_0 期，它们的细胞周期系统是完全结束了的：编码不同 Cdk 和 cyclin 基因的表达被永久关闭，而且细胞分裂不会发生。有一些类型的细胞退出细胞周期只是暂时的，具有重新快速进入到细胞周期控制系统的能力而重返细胞周期。例如，大部分肝细胞处于 G_0 期，但是当肝受损伤时，它们会被刺激开始分裂。其他一些类似的细胞，包括淋巴细胞，在其生活周期过程中，不断地退出细胞周期和重返细胞周期。

我们身体中几乎所有细胞周期长短的变化取决于细胞在 G_1 期或 G_0 期的时间。而细胞从 S 期开始进入有丝分裂的时间是非常短的（哺乳动物细胞通常是 12～24h），而且相对地稳定，不管两个细胞分裂周期的间隔有多长。

有丝分裂原激活 G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk

对于大多数动物细胞来说，有丝分裂原通过作用于细胞周期中的 G_1 期控制细胞分裂的速率。如早先所说的，存在多种机制在 G_1 期抑制 Cdk 的活性，而抑制细胞进入 S 期。有丝分裂原解除了对 Cdk 活性的抑制作用，因此可以促使细胞进入 S 期。他们通过和细胞表面的受体结合来起始细胞内一系列复杂的信号通路而传递进入细胞质和细胞核（第 15 章）。最终的结果是激活 G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk 复合物，它们克服了阻止细胞进入 S 期的障碍物。

如第 15 章所说，在有丝分裂原信号通路的早期阶段是激活小 GTP 酶 **Ras** 蛋白，它会诱导一系列 MAP 激酶的级联反应。通过一种未知的机制，又导致基因调节蛋白 **Myc** 的表达水平上升。Myc 通过多种机制加速细胞周期进程（图 17-41）。它提高 G_1 期 cyclin（D cyclin）的转录水平，因此增加 G_1-Cdk（cyclin D-Cdk4）的活性。另外，Myc 增加编码 SCF 泛素化连接酶基因的表达水平。这个作用会加快 CKI 蛋白 p27 的降解，而提高 G_1/S-Cdk（cyclin E-Cdk2）的活性。如前所述，G_1-Cdk 和 G_1/S-Cdk 活性的增加会激活抑制蛋白 Rb 的磷酸化，而导致基因调节蛋白 E2F 的活性。Myc 也可以活化 E2F 基因，进一步提高胞内 E2F 的活性。最终的结果是提高那些细胞进入 S 期所需基因的表达水平（图 17-30）。我们稍后会接着讨论，Myc 在激活那些可以促进细胞生长基因的表达上有重要作用。

不正常的增殖信号促使细胞周期停止或者细胞凋亡

如在第 23 章中提到，许多细胞内信号通路的组分由一些最初被鉴定的癌症促进基因编码，或者原癌基因，因为这些基因的突变会导致癌症的发生。如 Ras 基因的一个氨基酸的突变，会导致该蛋白质永久性有活性，导致 Ras 依赖的信号通路在缺少有丝分裂原刺激的情况下也能持续被激活。相似地，Myc 基因的过量表达会促进细胞生长和增殖，而加速癌症的形成。

但是，令人惊奇的是，当通过实验在多数正常细胞中维持 Ras 或者 Myc 的高水平表达时，结果不是过度增殖而是相反的：检验点机制的激活反倒使细胞周期停止或者细胞凋亡。正常细胞似乎可以监测不正常的有丝分裂信号，而阻止细胞的进一步分裂。这些检验点应答帮助那些带有多个癌症促进因子突变的细胞不能够存活或者增殖。

虽然我们还不知道细胞是怎么样感受到这种过量的有丝分裂刺激的，但是我们发现，这种刺激会导致细胞周期抑制因子 $P19^{ARF}$ 的产生，它会和 Mdm2 结合，并抑制其活性。如前所述，Mdm2 会加速 p53 的降解。$P19^{ARF}$ 的活化会提高 p53 的水平，因此可以促进细胞周期停止或者细胞凋亡（图 17-42）。

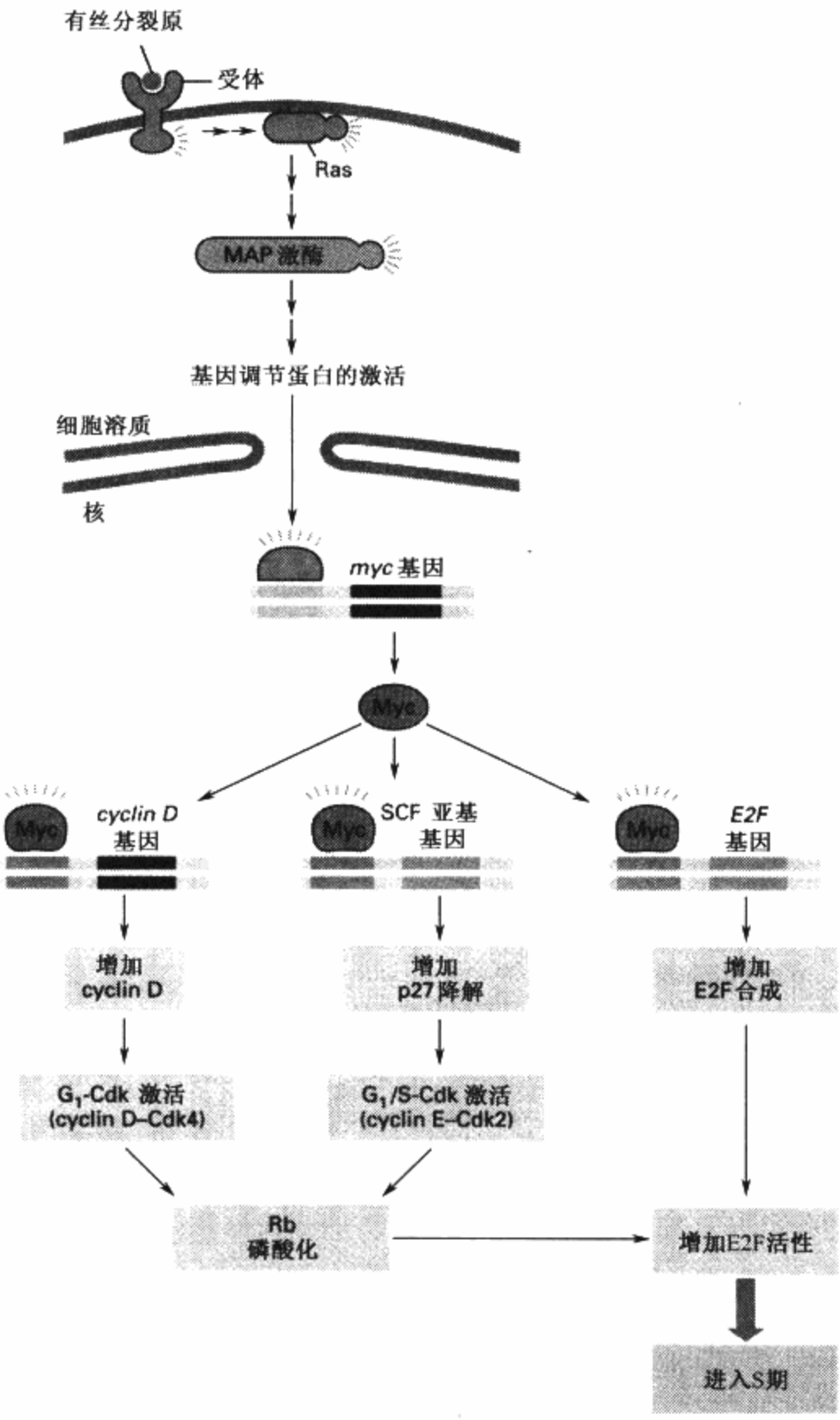


图 17-41　有丝分裂于原刺激细胞分裂一条通路的一个简单的模型

有丝分裂原和细胞表面受体的结合导致了 Ras 的激活和 MAP 激酶级联反应。这条通路其中一个效应是增加了基因调节蛋白 Myc 的表达。Myc 可以增加一些基因的转录，包括 cyclin D 和一个编码 SCF 泛素化连接酶的基因。G_1-Cdk 和/S-Cdk 的增强表达会加速 Rb 的磷酸化而激活基因调节蛋白 E2F，导致细胞进入 S 期（图 17-30）。Myc 也通过激活 E2F 基因的转录水平来直接提高 E2F 的活性。图中简单表示，Myc 是一个单体的形式，在其行使功能时会和另外一个 Max 蛋白形成异源二聚体

如果这些机制控制细胞分裂或者阻止那些有过度增殖信号的突变细胞的存活，那么为什么会有癌细胞数量的升高？答案是该保护系统在癌细胞中通常是失活的，因为这些编码检验点应答的重要组分，如 $P19^{ARF}$ 或者 p53 发生了突变。

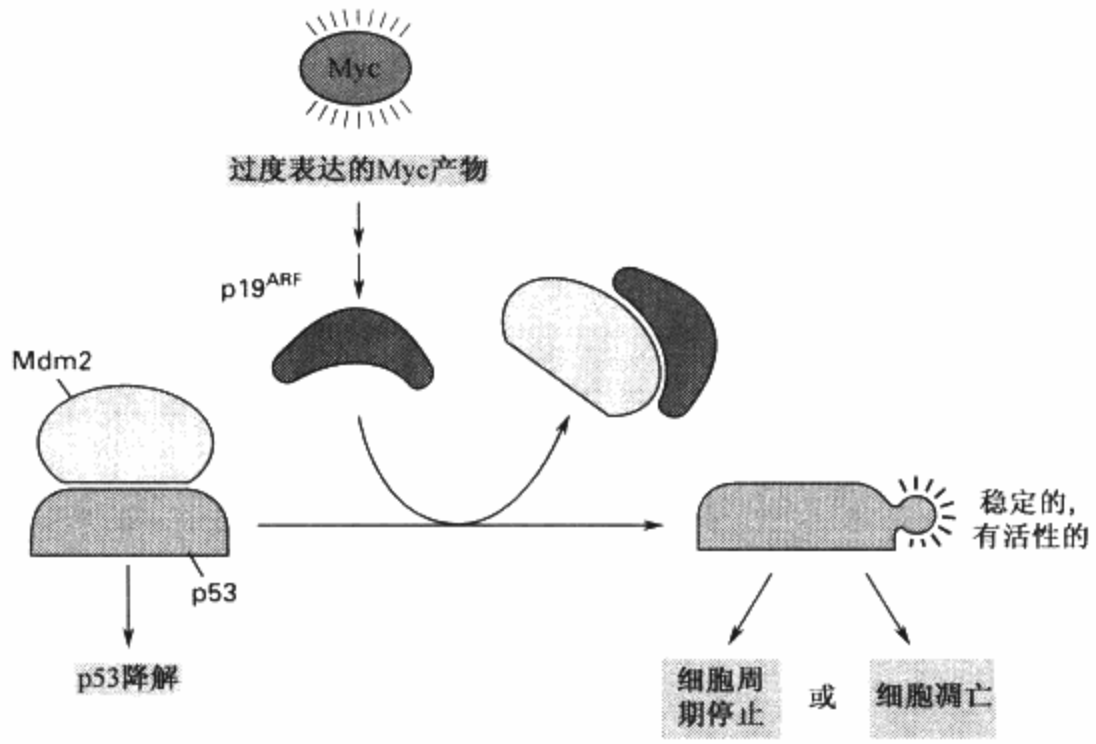


图 17-42　有丝分裂途径的过度活化导致细胞周期停止或者凋亡

不正常的 Myc 的高表达会活化 $P19^{ARF}$，它又可以和 Mdm2 结合而抑制后者的活性，因而提高 p53 的水平（图 17-33）。依赖于细胞的类型和细胞外的环境，p53 会促进细胞周期停止或者细胞凋亡

人类细胞有一个内在的控制限制细胞分裂的数量和时间

细胞分裂不仅由细胞外的有丝分裂原控制，也由细胞内的机制来限制细胞的增殖。如很多动物前体细胞，它们只能分裂有限的次数而最终分化成为一个永久的特定的细胞状态。虽然我们对分裂的停止机制不是很了解，但是一个 CKI 蛋白的表达量持续提高可能在这个过程中有重要作用。CKIp27 发生突变的老鼠，因为其终止机制的缺陷，其所有器官的细胞数量都比正常老鼠的细胞数量要多。

了解的最为清楚的控制细胞增殖的细胞内机制是成纤维细胞中的机制。从一个正常人类组织中分离的成纤维细胞在标准的有丝分裂培养基中只能经过 25～50 次的分裂。随着时间的增加，增殖变慢而且最终停止，细胞进入一个不分裂状态，而且永远不能恢复分裂。这个现象叫做**分裂细胞的衰老**，虽然它和器官的衰老（老化）并没有关系。器官的衰老至少部分依赖于大分子的过度氧化损伤，通过降低代谢（如减少食物的摄取）可以减少活性氧的产生而延长实验动物的生命。

人成纤维细胞中的分裂细胞衰老似乎是由**端粒**结构的变化引起的，它是一段重复的 DNA 序列，和蛋白质一起位于染色体的末端。如第 5 章所讨论，当一个细胞分裂时，端粒 DNA 是不能如基因组的其他 DNA 一样发生复制的，它们是由**端粒酶**合成的。由于一些并不十分清楚的机制，端粒酶促进那些可以保护染色体末端的蛋白帽结构的形成。因为人成纤维细胞和其他一些体细胞中端粒酶的缺陷，每一次分裂后端粒都会变短，它们的保护蛋白帽结构也逐渐降解。最后，染色体末端发生 DNA 损伤。这个损伤激活 p53 依赖的细胞周期的终止，类似于其他类型 DNA 损伤的细胞周期的停止（图 17-33）。

多数体细胞中缺少端粒酶可以保护潜在的像在癌细胞中的过度增殖的影响。不幸的是，多数癌细胞有产生端粒酶的能力，因此在其增殖过程中拥有端粒的功能；结果它们就不会发

生分裂细胞衰老（见第 23 章）。通过基因工程技术，在人成纤维细胞中表达端粒酶基因有同样的结果（图 17-43）。

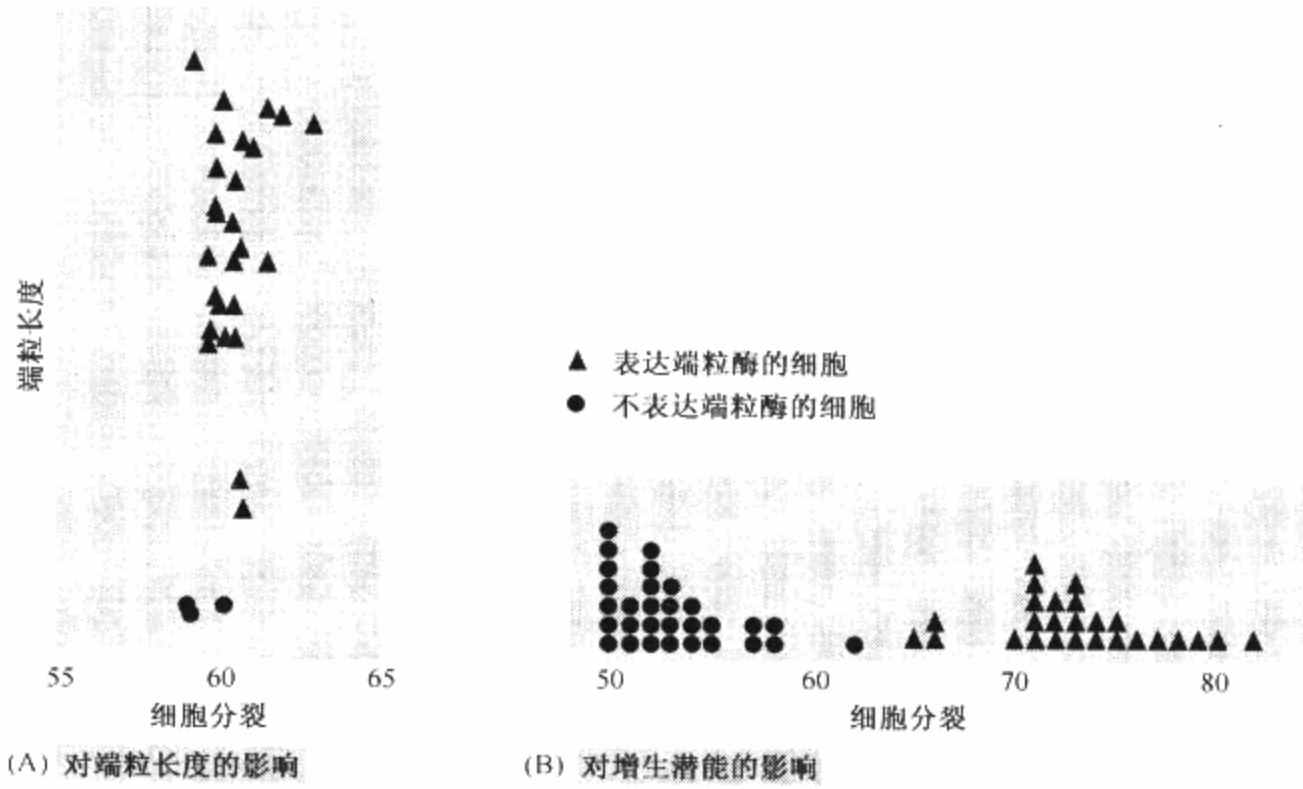


图 17-43　通过强迫表达端粒酶可以克服分裂细胞衰老

(A) 正常的人成纤维细胞中不包含端粒酶，所以它们的端粒逐渐变短，在细胞增殖过程中失去其正常的帽结构。但是，强迫细胞表达端粒酶，在细胞分裂后可以维持端粒的长度（和正常帽结构）。(B) 正常的成纤维细胞在实验条件下经过 50～60 次分裂后会停止分裂，而那些表达端粒酶基因的细胞则在实验中仍然发生分裂

相反地，正常的啮齿类细胞增殖过程中，端粒酶的活性通常维持高水平，而端粒有正常的功能，因此它们不会发生这种细胞的衰老。但是，当在培养基中过度刺激，它们通常会激活 $p19^{ARF}$依赖的检验点机制，而最终停止分裂。而使这种检验点机制失活的突变会使啮齿类细胞在培养基中随意增殖。这种突变的细胞通常叫做“不死的”。如果最佳的培养条件可以避免激活这种检验点应答，在一定程度上会有一些正常的啮齿类细胞无限增殖。不过，啮齿动物的衰老比人要快。

胞外的生长因子可以刺激细胞生长

一个有机体或者器官的生长依赖于细胞的生长：如果没有细胞生长，单独的细胞分裂不能够增加总的细胞干重。单细胞生物如酵母，细胞的生长（类似于细胞分裂）只需要营养。而在动物中，细胞生长和细胞分裂都需要从其他细胞中获得信号。

胞外的**生长因子**可以通过和细胞表面的受体结合刺激细胞生长，激活细胞内的信号通路。这些信号通路刺激蛋白质和其他生物大分子的聚集，它们通过增加其合成的速度和降低其分解的速度来实现。

由生长因子受体激活的细胞内信号通路中最重要的一步涉及 **PI 3-激酶**，它将 ATP 上的一个磷酸加到质膜上的肌糖磷脂的第 3 位上。如第 15 章所述，PI 3-激酶的活化导致很多其他蛋白激酶的活化，包括 **S6 激酶**。S6 激酶磷酸化核糖体蛋白 S6，提高了核糖体翻译一类 mRNA的能力，而这类 mRNA 通常是编码核糖体组分的。因此蛋白质合成增加。当果蝇中编

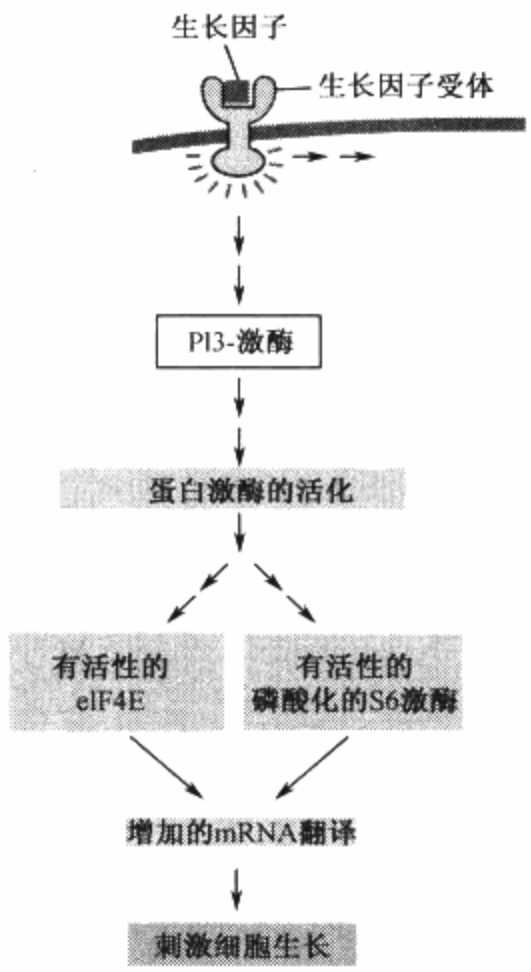


图 17-44　生长因子促进细胞生长的一种途径

在这个简化的流程中，细胞表面受体的激活导致 PI 3 激酶的活化，然后 PI 3 激酶促进蛋白质的合成，至少部分激活 eIF4E 和 s6 激酶。生长因子也可以抑制蛋白质的分解（图中没有显示），尽管这些途径所知甚少

码 S6 激酶的基因失活时，突变体果蝇体形很小；细胞的数量是正常的，而细胞变小。生长因子通常活化一个翻译起始因子 eIF4E，这也可以增加蛋白质的合成和细胞生长（图 17-44）。

生长因子的刺激也会导致基因调控蛋白 Myc 的表达，它在有丝分裂原信号通路中有重要作用（图 17-41）。Myc 可以提高一些编码细胞代谢和大分子合成的重要基因的转录水平，从而刺激细胞代谢和细胞生长。

一些胞外信号蛋白，包括 PDGF，可以既作为生长因子又作为有丝分裂原，刺激细胞生长和细胞周期进程。这种功能重叠部分是由于控制这两个过程的细胞内信号通路的重叠。如 Ras 信号蛋白，可以被生长因子和有丝分裂原激活。它可以刺激 PI 3 激酶通路来提高细胞生长和 MAP 激酶通路来促进细胞增殖。相似地，如上所述，Myc 可以刺激细胞生长和细胞周期增殖。胞外因子作为细胞因子和有丝分裂原可以帮助确保细胞在增殖过程中维持最合适的大小。

某些细胞的生长和分裂可以被一些独立的胞外信号蛋白控制。这种独立的调控在胚胎细胞发育过程中是十分重要的，这样可以导致某些细胞的大小发生显著的变化。在成年动物中，生长因子可以刺激细胞生长而不影响细胞分裂。如交感神经细胞，它是永久性地退出细胞周期的，其体积取决于由其所支配的靶细胞分泌的**神经生长因子**（**nerve growth factor，NGF**）的数量。神经生长因子的量越高，其体积越大。但是，同种动物细胞内不同的细胞类型为什么有这么大的体积差异，仍然是一个谜（图 17-45）。

胞外的生存因子抑制细胞凋亡

动物细胞需要从其他细胞中获得信号，不仅仅是生长和增殖，而且还必须生存。如果失去这些**生存因子**，细胞激活其内在的死亡程序，通过凋亡而死亡。这种安排保证了细胞在合适的时间和地点生存。如神经细胞，在神经系统发育过程中过量产生，它们竞争有限的生存因子，这些生存因子由与其相联系的靶细胞分泌。获得了足够生存因子的神经细胞生存，而其余的通过细胞凋亡死亡（图 17-46）。相似地依赖于相邻细胞的生存信号，在其他组织的发育和成体中控制细胞数量。

生存因子，如有丝分裂原和生长因子，通常和细胞表面的受体结合。结合激活了信号通路，可以维持死亡程序被抑制，这个信号通常通过调控 Bcl-2 家族的蛋白质来实现。有些因子刺激这个家族的凋亡抑制因子的过量表达，其他的通过抑制凋亡促进因子家族的表达［图 17-47（A）］。在果蝇中，以及可能在脊椎动物中，一些生存因子可以通过刺激 IAP 的活性来抑制凋亡［图 17-47（B）］。

相邻的细胞竞争胞外的信号蛋白

将大多数哺乳动物细胞培养在含有血清的培养基中，它们会互相粘连到培养皿的底部，

蔓延开来，分裂直至形成平滑的单层细胞。每个细胞结合到培养皿而且和邻近的细胞相连。在这一点上，正常的细胞不像癌细胞那样，它们会停止增殖——这种现象叫做密度依赖的抑制细胞分裂。这种细胞分裂现象最初叫做“接触抑制”，但是这种现象不仅是因为细胞之间的相互作用。随着培养基中的血清浓度的增加，单层细胞停止增殖时所需要的细胞密度越高。而且，将一股新鲜的培养基流过一层单层成纤维细胞，可以减少有丝分裂原的扩散限制，使这层培养基下的细胞可以在正常情况下会受到抑制的细胞浓度下进行分裂（图 17-48）。因此，密度依赖的细胞增殖至少在一定程度上反应了细胞消耗局部培养基的能力，而这又反应了其吸收胞外有丝分裂原而抑制其邻近细胞的能力。

这种类型的竞争对于组织中的细胞也是很重要的，因为它们可以防止细胞在超过一定浓度后继续增殖，因为它受可获得的有丝分裂原、生长因子和生存因子所限制。组织中这些因子的量是有限的，它们量的增加意味着细胞的数量或者体积的增加，或者两者兼而有之。因此，组织中这些因子的浓度对于细胞的体积和数量有重要的作用。

很多类型的动物细胞需要锚定来进行生长和增殖

细胞在其沿着底部扩散运动占领空白空间的过程中，形状会发生变化，而这个对于细胞的生长、分裂和生存有重要的影响。当正常的成纤维细胞或者上皮细胞悬浮培养时，它们不能和任何固体机制接触，因此一直是圆形的，它们基本上不分裂——这种现象叫做锚定依赖的细胞分裂（图 17-49）。但是当把这些细胞安放和连接到一个黏的底物时，它们迅速在粘连的地方形成局部黏着斑，然后开始生长和细胞分裂。

细胞的黏附是怎么产生生长和增殖信号的呢？粘连斑是细胞外基质分子，如层粘连蛋白、粘连蛋白等与细胞表面基质受体整联素结合的地方，整联素和肌动蛋白细胞骨架相连（见第 19 章）。细胞外基质分子和整联素的结合导致局部蛋白激酶的激活，包括粘连斑激酶（focal adhesion kinase，FAK）等，然后产生一系列细胞内信号通路的活化，可以加快细胞的生存、生长和分裂（图 17-50）。

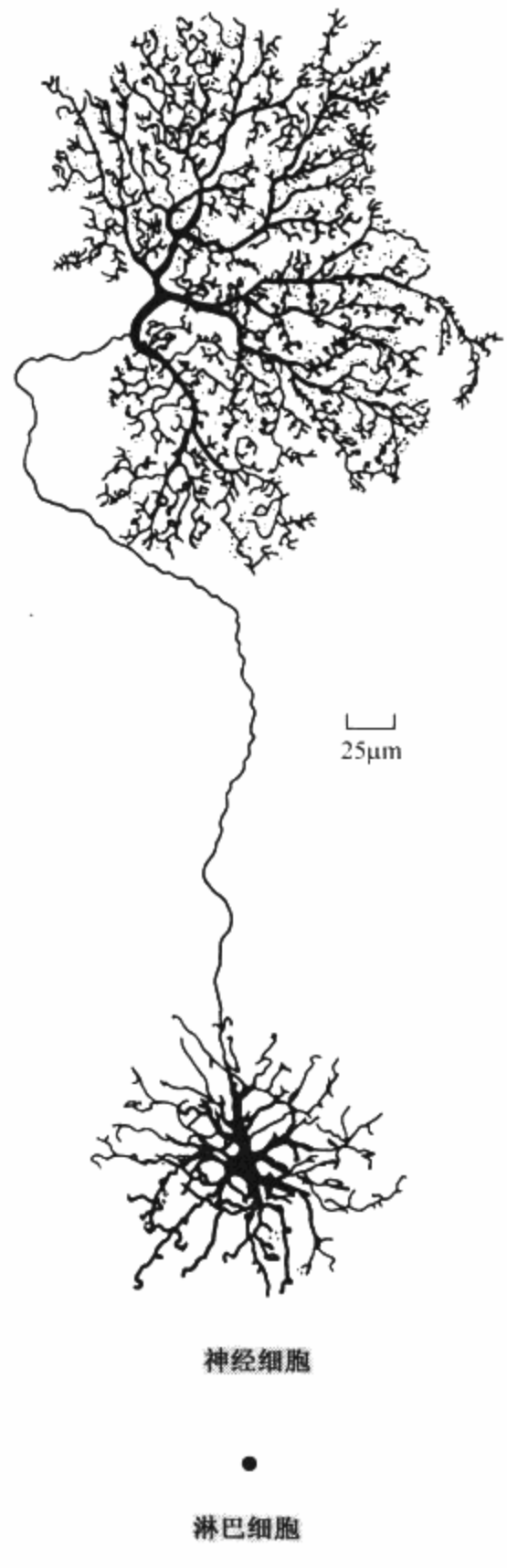


图 17-45　哺乳动物神经细胞（来源于视网膜）和淋巴细胞的体积的差异

两种细胞内的 DNA 量相同。当神经细胞永久性退出细胞周期后，其体积会变得很大。在这个时期，细胞质和 DNA 的比例大幅度提高（有些神经细胞因子大于 10^5）

正如其他控制细胞分裂的方式，锚定控制在 G_1 期。细胞需要锚定才能从 G_1 期进入 S 期，但是整个周期的完成不需要锚定。实际上，细胞通过 M 期时，它们之间的连接会变得松散，细胞变为圆形。连接和去连接的循环允许细胞在组织中安排它们与其他细胞和胞外基质

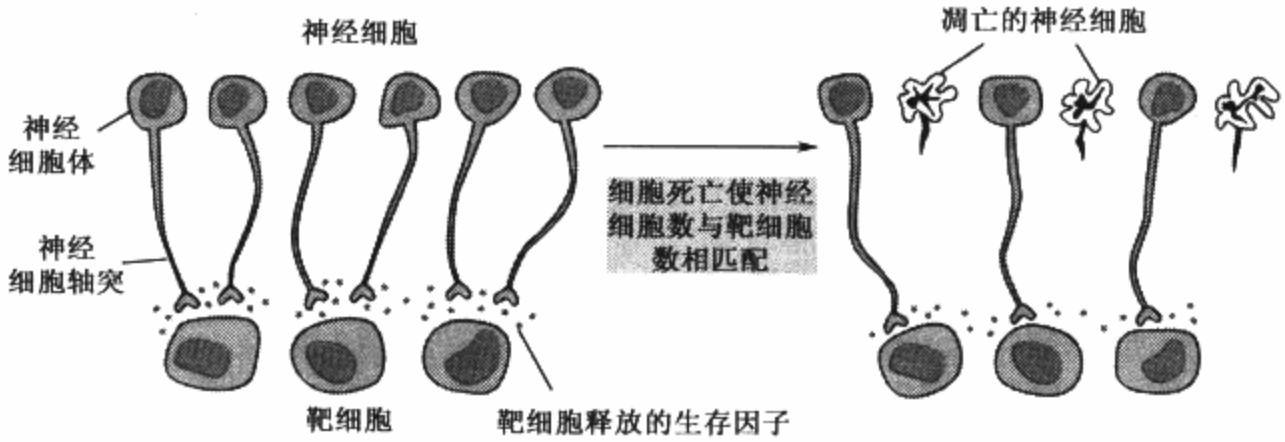


图 17-46　细胞凋亡通过匹配发育的神经细胞和其相应的靶细胞

神经细胞形成超过了靶细胞释放的有限的生存因子。因此，有些细胞只能接受不够的生存因子来抑制其自杀状态，结果发生凋亡。通过这个过程产生以及优胜劣汰的策略来保证所有的靶细胞和神经细胞相连，而外部的神经细胞自发地消失

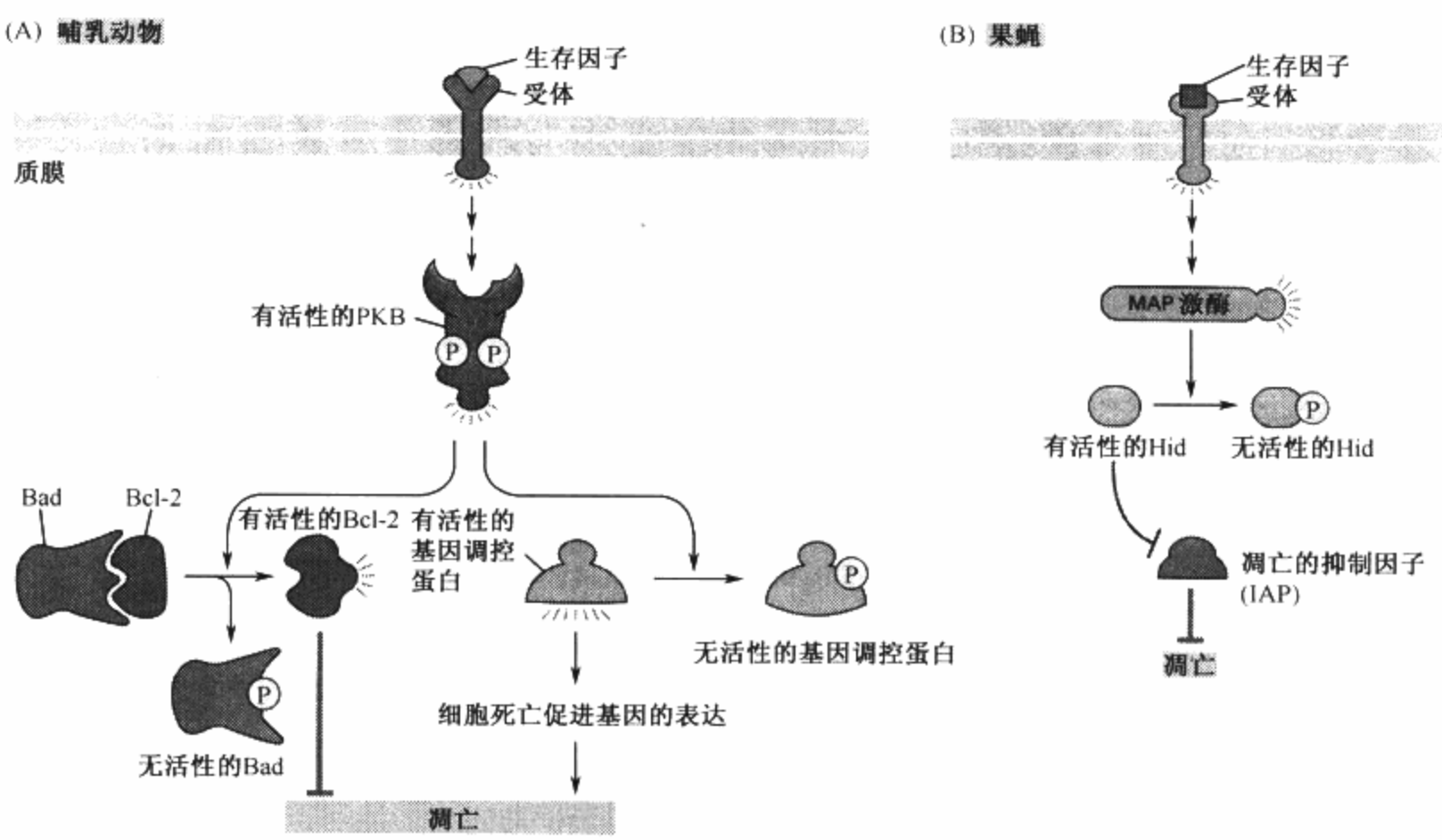


图 17-47　生存因子抑制细胞凋亡的两个途径

(A) 在哺乳细胞中，生存因子和细胞表面受体的结合会导致很多蛋白激酶的活化，包括蛋白激酶 B (PKB)，它磷酸化并失活 Bcl-2 家族的 Bad 蛋白。当非磷酸化时，Bad 通过和 Bcl-2 结合来抑制其功能而促进细胞凋亡。当发生磷酸化，Bad 解离，释放 Bcl-2 来抑制凋亡。如图所示，PKB 也通过磷酸化来抑制凋亡，因此抑制基因调控蛋白 Forkhead 家族，该家族蛋白是刺激编码促凋亡因子的转录的。(B) 在果蝇中，一些生存因子通过磷酸化 Hid 蛋白抑制凋亡。当非磷酸化时，Hid 通过抑制 IAPs 促进细胞凋亡。当磷酸化以后，Hid 不再抑制 IAPs，IAP 被激活而抑制凋亡

的联系。通过这种方式，组织可以容纳因细胞分裂产生的子细胞，它们安全地和组织结合以开始下一轮细胞分裂。

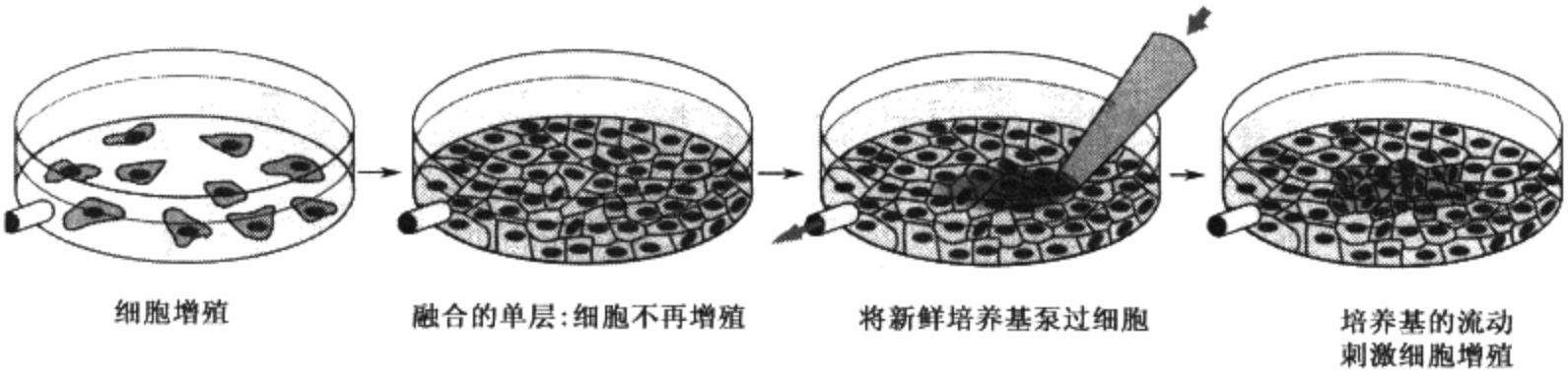
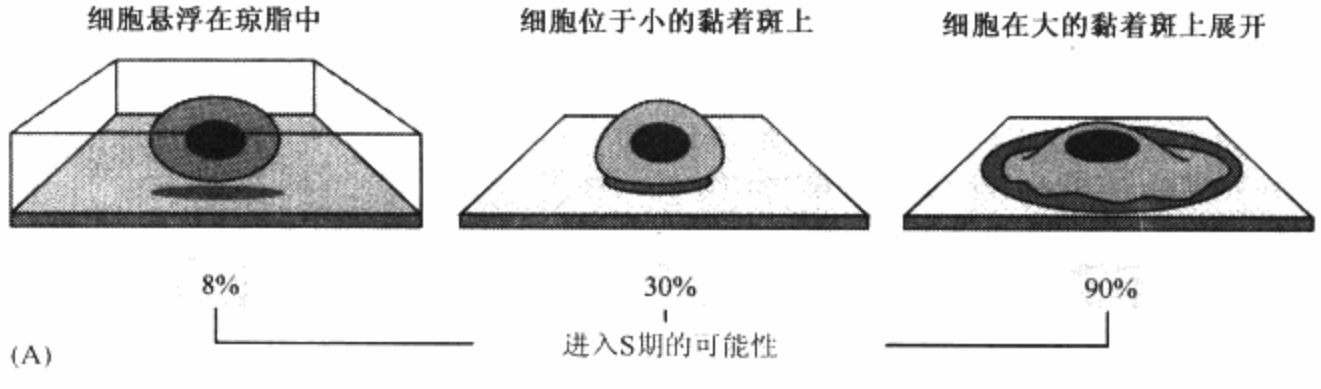
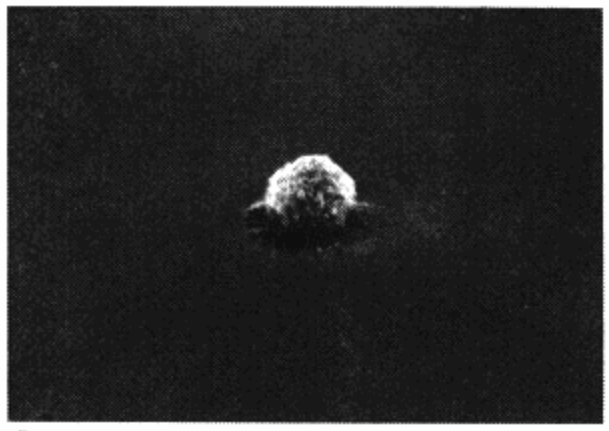
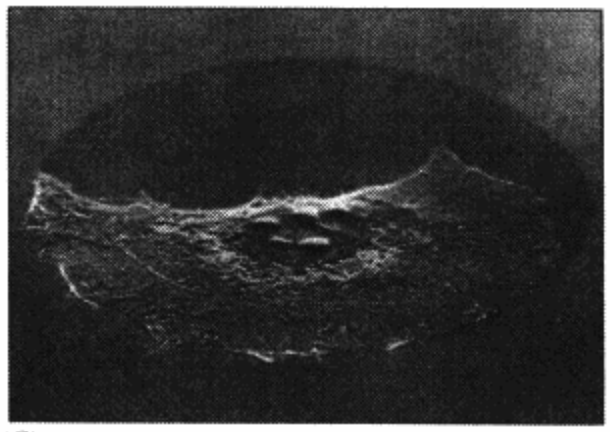


图 17-48　新鲜培养基对融合的单层细胞的影响

融合的单层细胞不分裂（灰色）。当细胞直接处于新鲜培养基中时重新开始分裂（绿色）。明显的是，在平静的单层细胞中，增殖停止，因为接近细胞的培养基缺少细胞竞争所需的有丝分裂原




(B)



(C)

图 17-49　细胞形状和锚定依赖于细胞分裂

在这个实验中，细胞处于悬浮状态或者允许在非黏附培养基上粘连在黏附介质上（钯）。黏附的直径是可见的，决定了一个细胞扩散的程度和进入 S 期的能力。1～2 天后，将^{3}H 胸腺嘧啶脱氧核苷加入到培养基中，固定培养基，放射自显影来观察进入 S 期的细胞数［图 17-11（A）］。（A）悬浮培养的 3T3 细胞系很少有进入 S 期的，但是当黏附到一个非常小的介质上，可以小到不允许细胞扩散，还是有很多细胞可以进入 S 期。（B）和（C）扫描电子显微镜显示了一个小的黏着斑和一个大的黏着斑的细胞扩散。与成纤维细胞和上皮细胞不同的是，有些类型的细胞（包括淋巴细胞和血细胞前体）可以悬浮培养分裂

一些胞外信号蛋白抑制细胞成长、细胞分裂和存活

本章中讨论到促细胞分裂素、生长因子和存活因子，这些胞内信号蛋白分别是细胞周期进程、细胞生长和细胞存活的正调控因子。它们倾向于增加器官或者机体的尺寸。但是在一

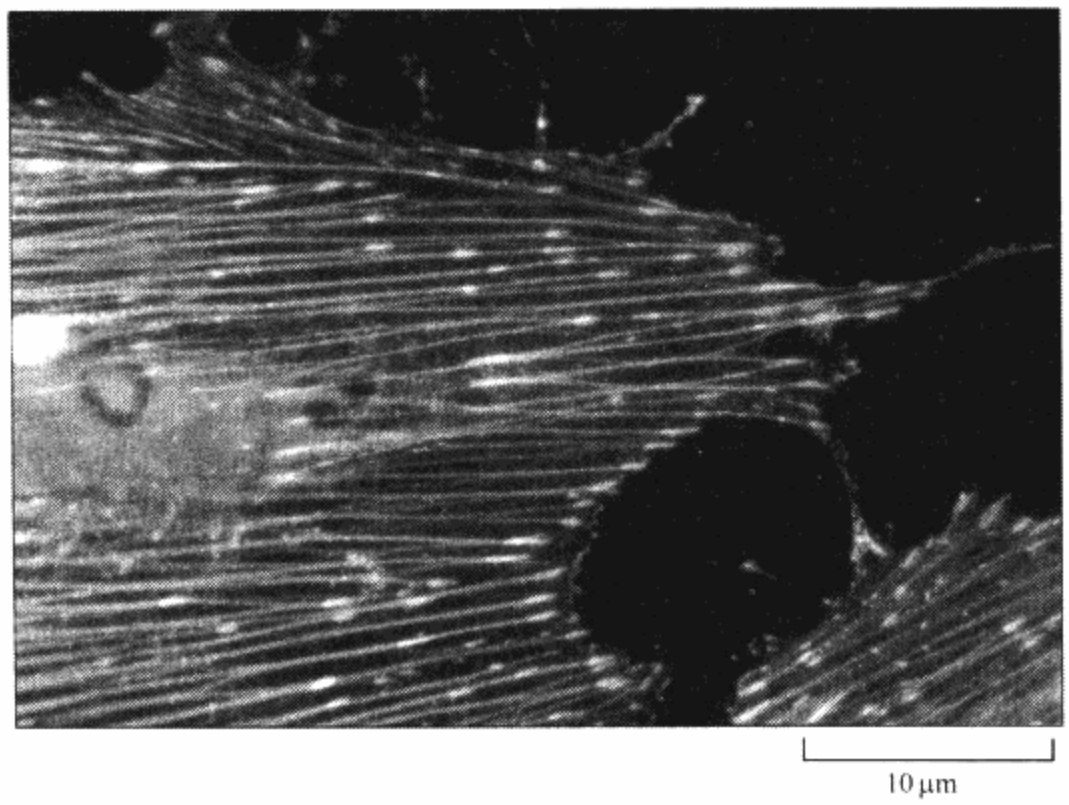


图 17-50　作为胞内信号产生位点的黏着斑

该荧光显微照片显示在含有外源纤维蛋白基质上培养的纤维原细胞。肌动蛋白丝被标记为绿色荧光，而含有磷酸酪氨酸的激活蛋白则被与红色荧光结合的抗体标记。两种元件叠加处的最终颜色是橙色。微管丝细胞在基质上附着的黏着斑处终止。包含磷酸酪氨酸的蛋白质也集中于这些位置。通常认为这反映了在胞外与纤维蛋白结合且在胞内与肌动蛋白纤维（间接）结合的跨膜整合蛋白刺激黏着斑激酶（focal adhesion kinase，FAK）和其他蛋白激酶的局部活化。在这些黏着点处产生的信号帮助在纤维蛋白和上皮细胞内调控细胞分裂、生长和生存

些组织中，与正调控信号相反的抑制性胞外信号也会影响细胞和组织的大小从而抑制器官生长。

研究最清楚的抑制信号蛋白是 TGF-β 和其相关物。TGF-β 通过在 G_1 期阻断细胞周期进程或者刺激凋亡抑制一些类型细胞的增殖。如第 15 章所述，TGF-β 结合到细胞表面的受体并起始胞内信号通路，引发一个叫做 Smads 的基因调控蛋白的激活。这会导致编码细胞分裂和细胞死亡调控因子基因转录的复杂变化，现在我们对此还知之甚少。

TGF-β 家族的骨骼形态发生蛋白（bone morphogenetic protein，BMP）就是一个诱导凋亡的胞外信号。BMP 帮助诱发除去小鼠爪中发育脚趾间组织的凋亡的发生（图 17-35）。虽然这些基因的本质还不清楚，但与 TGF-β 相似，BMP 也刺激调控细胞死亡基因的转录的变化。

在某些情况下可以通过抑制信号蛋白限制器官的总体积。例如，TGF-β 家族中的 Myostatin 就抑制融合形成骨骼肌肉细胞的成肌细胞的扩增。在小鼠中，当编码该 myostatin 的基因缺失时，肌肉会长得比正常的大数倍（图 22-43）。肌细胞的数量和体积都变大。两类培育的大肌肉型牛编码 myostatin 的基因都发生了突变（图 17-51）。

复杂的细胞分化调控模式产生并维持机体形状

多细胞机体生命源于由复杂规则控制的一系列周期分化。秀丽新小杆线虫对此做出了清晰的解释。受精卵分裂产生准确含有 959 个个体细胞核的成虫（雄性），每一个细胞核都由其自身特异并顺序绝对确定的细胞分裂产生（起始细胞数量要比这多，但 100 多个细胞会在发育过程中因凋亡死掉）。一般来说，仅仅根据钟型时间表控制的细胞分裂无法控制产生如此精

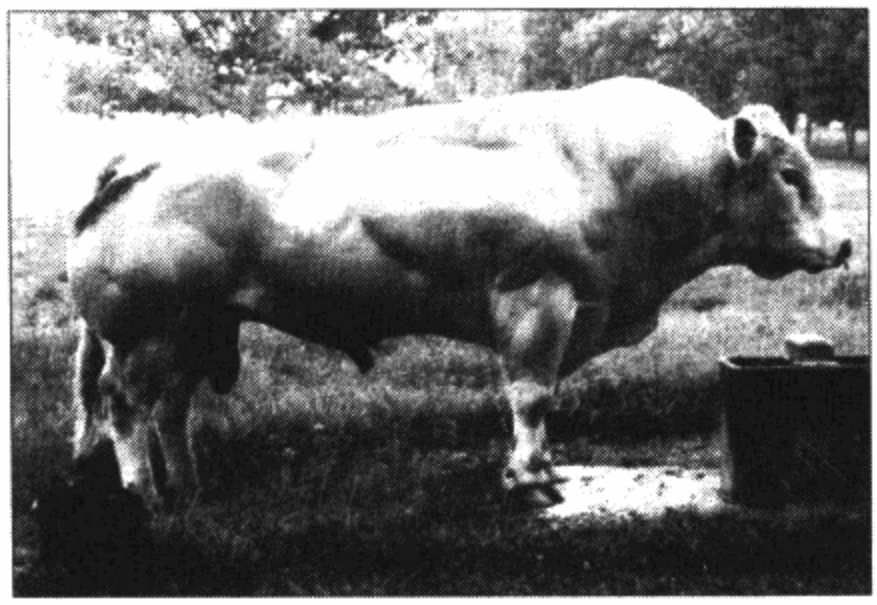


图 17-51　myostatin 突变对肌肉尺寸的影响

如这个比利时兰公牛所示，突变导致肌肉组织质量显著增加。比利时兰牛由牛的育种产生，最近发现其 myostatin 发生突变。突变同一基因的大鼠也有异常大的肌肉（图 22-43）（摘自 A. C. McPherronS. -J. Lee, *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 12457 ~ 12461, 1997, @ National Academy of Science.）

确的细胞数量。相反，机体似乎主要控制细胞质量，这不仅依赖于细胞数量，还依赖于细胞体积。例如，不同倍体的蝾螈虽体积相同，但却具有不同数量的细胞。五倍体蝾螈的细胞体积是单倍体蝾螈的五倍大，同时在每一个器官中，五倍体只生成单倍体细胞数量的 1/5，这样两个动物器官的体积基本相同（图 17-52 和图 17-53）。很显然，在这里（还有其他很多情况下）器官或者机体的大小依赖于以某种方式调节总的细胞质量。

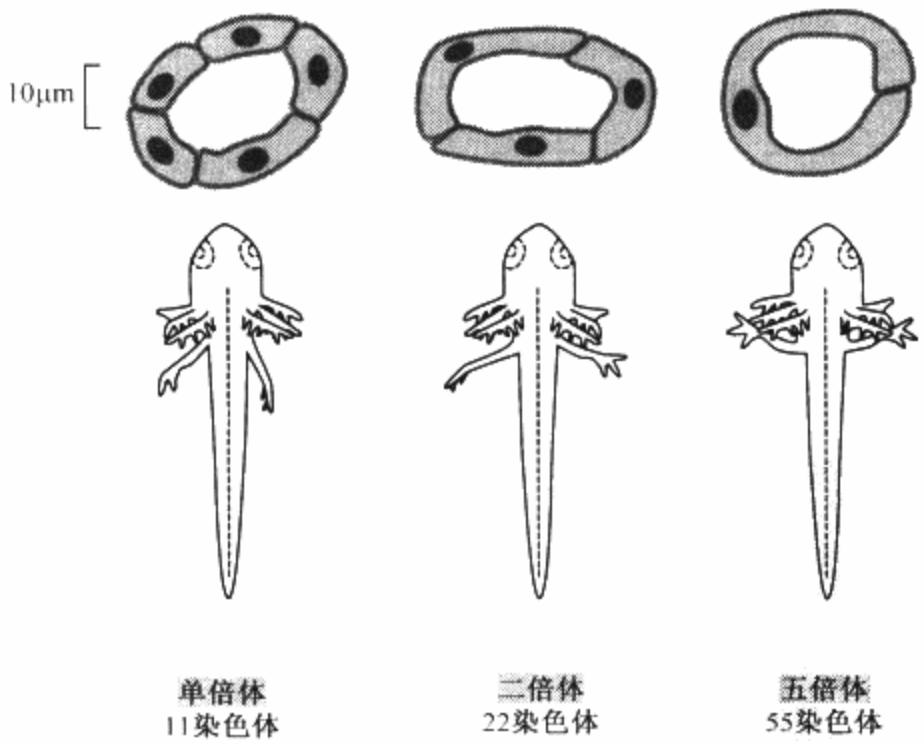


图 17-52　不同倍体蝾螈幼虫的肾管截面图

从细菌到人类，所有机体的细胞体积与倍体数成比例。例如，五倍体蝾螈的细胞体积就比单倍体蝾螈的大很多。但是动物和其独立的器官却大小相同，因为五倍体动物的组织含有较少的细胞。这说明机体或者器官的大小不仅由细胞分裂或者细胞数量控制；必定是有某种机制在调控总的细胞质量（摘自 G. Fankhauser, in Analysis of Developement, B. H. Willier, P. A. Weiss, and V. Hamburger, eds. J, pp. 126~150. philadelpía: Saunders, 1955）

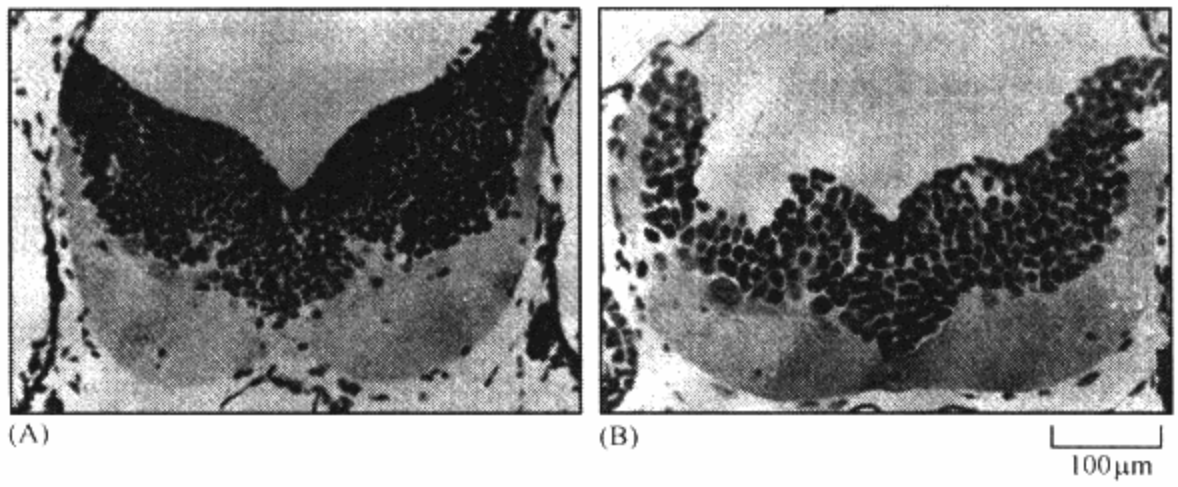


图 17-53　单倍体和四倍体蝾螈中的后脑图

（A）光学显微照片为单倍体蝾螈后脑的纵切；（B）四倍体蝾螈后脑的相应纵切，表明细胞数量的减少如何弥补细胞体积的增加（摘自 G. Fankhauser, *Int. Rev. Cytol.* 1：165～193，1952）

特殊大小和形状的肢和器官的发育依赖于复杂的位置控制和刺激或者抑制细胞生长、分裂和存活的外源信号蛋白的浓度。如我们在第 21 章所述，在胚胎内的一些帮助设计这些进程的基因已经知晓。但是到底这些基因是如何控制细胞生长、分裂、生存和分化产生复杂机体的，还需要去了解。

成体中支配这些进程的控制系统仍旧了解很少。例如，脊椎动物皮肤创伤愈合时，至少有从纤维原细胞到神经鞘细胞一大类型细胞必须以正确的数量在正确的部位重建失去的组织。组织中控制细胞繁殖的机制就像理解癌症的核心，如第 23 章所述，一种控制错误的疾病。

小结

在多细胞动物中，细胞体积、细胞分裂和细胞死亡被严密控制以保证机体和其组织达到并维持正确的体积。三类外源信号蛋白参与这个控制，其中的很多组分影响两个或者更多进程。促细胞分裂素通过除去在 G_1 期抑制细胞周期进程的控制闸刺激细胞分裂的速度。生长因子通过促进大分子的合成并抑制其降解促进细胞质量的增加。存活因子通过抑制凋亡增加细胞数量。抑制细胞分裂或者细胞生长或者诱发细胞凋亡的外源信号也参与体积控制。

参考文献

一般文献

Baserga R (1985) The Biology of Cell Reproduction. Cambridge, MA: Harvard University Press.

Mitchison JM (1971) The Biology of the Cell Cycle. Cambridge: Cambridge University Press.

Murray AW & Hunt T (1993) The Cell Cycle: An Introduction. New York: WH Freeman.

An Overview of the Cell Cycle

Hartwell LH, Culotti J, Pringle JR & Reid BJ (1974) Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science* 183, 46–51.

Kirschner M, Newport J & Gerhart J (1985) The timing of early developmental events in Xenopus. *Trends Genet.* 1, 41–47.

Lohka MJ, Hayes MK & Maller JL (1988) Purification of maturation-promoting factor, an intracellular regulator of early mitotic events. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 3009–3013.

Masui Y & Markert CL (1971) Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J. Exp. Zool.* 177, 129–146.

Nurse P, Thuriaux P & Nasmyth K (1976) Genetic control of the cell division cycle in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol. Gen. Genet.* 146, 167–178.

Components of the Cell-Cycle Control System

Deshaies R (1999) SCF and cullin/Ring H2-based ubiquitin ligases. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 15, 435–467.

Hartwell LH & Weinert TA (1989) Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 246, 629–634.

Koch C & Nasmyth K (1994) Cell cycle regulated transcription in yeast. *Curr. Opin. Cell Biol.* 6, 451–459.

Morgan DO (1997) Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 261–291.

Pavletich NP (1999) Mechanisms of cyclin-dependent kinase regulation: structures of Cdks, their cyclin activators, and CIP and Ink4 inhibitors. *J. Mol. Biol.* 287, 821–828.

Spellman PT, Sherlock G, Zhang MQ et al. (1988) Comprehensive identification of cell cycle-regulated genes of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by microarray hybridization. *Mol. Biol. Cell* 9, 3273–3297.

Zachariae W & Nasmyth K (1999) Whose end is destruction: cell division and the anaphase-promoting complex. *Genes Dev.* 13, 2039–2058.

Intracellular Control of Cell-Cycle Events

Caspari T (2000) How to activate p53. *Curr. Biol.* 10, R315–R317.

Donaldson AD & Blow JJ (1999) The regulation of replication origin activation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 9, 62–68.

Dunphy WG (1994) The decision to enter mitosis. *Trends Cell Biol.* 4, 202–207.

Elledge SJ (1996) Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* 274, 1664–1672.

Harbour JW & Dean DC (2000) The Rb/E2F pathway: expanding roles and emerging paradigms. *Genes Dev.* 14, 2393–2409.

Hirano T (2000) Chromosome cohesion, condensation, and separation. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 115–144.

Johnston GC, Pringle JR & Hartwell LH (1977) Coordination of growth with cell division in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Exp. Cell Res.* 105, 79–98.

Kelly TJ & Brown GW (2000) Regulation of chromosome replication. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 829–880.

Nasmyth K, Peters JM & Uhlmann F (2000) Splitting the chromosome: cutting the ties that bind sister chromatids. *Science* 288, 1379–1385.

Neufeld TP & Edgar BA (1998) Connections between growth and the cell cycle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 784–790.

Rao PN & Johnson RT (1970) Mammalian cell fusion: studies on the regulation of DNA synthesis and mitosis. *Nature* 225, 159–164.

Shah JV & Cleveland DW (2000) Waiting for anaphase: Mad2 and the spindle assembly checkpoint. *Cell* 103, 997–1000.

Stillman B (1996) Cell cycle control of DNA replication. *Science* 274, 1659–1664.

Zhou BB & Elledge SJ (2000) The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 408, 433–439.

Programmed Cell Death (Apoptosis)

Adams JM & Cory S (1988) The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 281, 1322–1326.

Chao DT & Korsmeyer SJ (1998) BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu. Rev. Immunol.* 16, 395–419.

Ekert PG, Silke J & Vaux DL (1999) Caspase inhibitors. *Cell Death Differ.* 6, 1081–1086.

Ellis RE, Yuan JY & Horvitz RA (1991) Mechanisms and functions of cell death *Annu. Rev. Cell Biol.* 7, 663–698.

Kerr JF, Wyllie AH & Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26, 239–257.

Li H & Yuan J (1999) Deciphering the pathways of life and death. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 261–266.

Nicholson DW & Thornberry NA (1977) Caspases: killer proteases. *TIBS* 22, 299–306.

Extracellular Control of Cell Division, Cell Growth, and Apoptosis

Assoian RK (1997) Anchorage-dependent cell cycle progression. *J. Cell Biol.* 136, 1–4.

Blackburn EH (2000) Telomere states and cell fates. *Nature* 408, 53–56.

Conlon I & Raff M (1999) Size control in animal development. *Cell* 96, 235–244.

Datta SR, Brunet A & Greenberg ME (1999) Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev.* 13, 2905–2927.

Raff MC (1992) Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 356, 397–400.

Sherr CJ (1994) G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 79, 551–555.

Sherr CJ (1998) Tumor surveillance via the ARF-p53 pathway. *Genes Dev.* 12, 2984–2991.

Sherr CJ & DePinho RA (2000) Cellular senescence: mitotic clock or culture shock? *Cell* 102, 407–410.

Stocker H & Hafen E (2000) Genetic control of cell size. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 10, 529–535.

18　细胞分裂的机制

M 期概述
有丝分裂
胞质分裂

细胞通过复制其内容物并一分为二进行繁殖。这一复制和分裂周期，称为**细胞周期**，这一部分内容在第 17 章已经讨论过。在这一章里，我们来考察细胞周期中 **M 期**所发生的机械事件，这一时期是循环周期中的“巅峰”，包括核酸分配（有丝分裂）和胞质分配（胞质分裂）的不同时期。在一个相对短暂的时期，母细胞内容物（在循环周期的前一个时期已经增倍）被分配至两个子细胞。相邻的两个 M 期之间的时期被称为间期（interphase），多数迅速增殖的细胞的这一时期可被分为三个时期：S 期，在此期间 DNA 被复制（在第 5 章讨论），以及两个间隙期（gap phase），G_1 和 G_2，这两个时期为细胞的生长提供额外的时间（图18-1）。

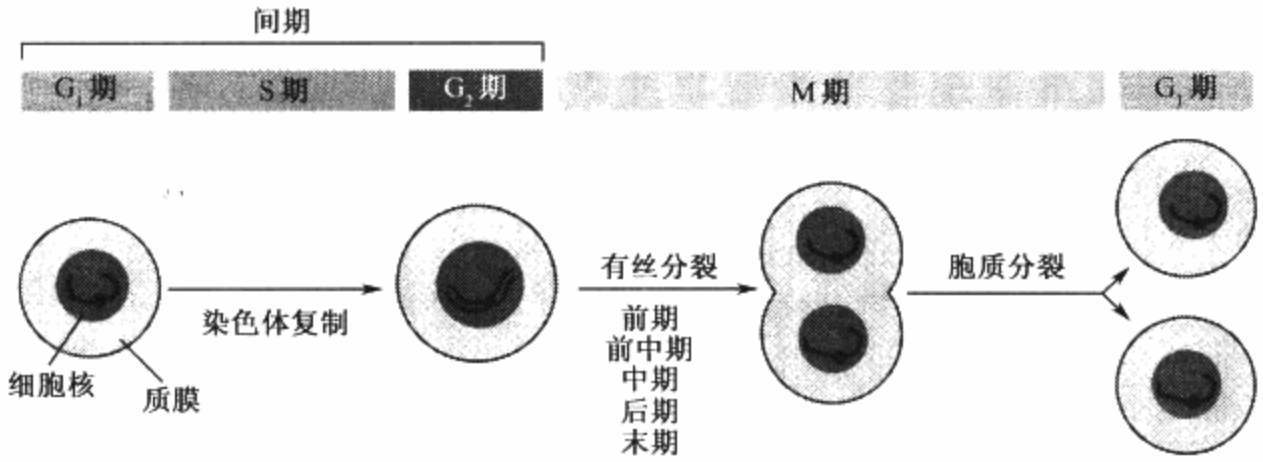


图 18-1　细胞周期中的 M 期

M 期开始于 G_2 期之后，在下一个 G_1 期开始时结束。这一时期包括核酸分离（有丝分裂）的 5 个步骤以及细胞质的分离（胞质分裂）

如在第 17 章中详细讨论的，细胞周期中的事件由细胞周期控制系统（cell-cycle control system）控制着。这一控制系统的核心由多种**周期蛋白依赖性蛋白激酶（cyclin-dependent kinase，Cdk）**组成，这些激酶被顺序激活从而触发细胞周期循环的不同步骤。Cdk 由周期蛋白调控蛋白（cyclin regulatory protein）的结合以及激酶的磷酸化和去磷酸化作用而被激活。它们因不同的 Cdk 抑制蛋白（CKI）的作用和细胞周期中特定时期周期蛋白亚基的降解而失活。

M 期 Cdk（M-Cdk）触发蛋白质磷酸化的瀑布式反应从而起始 M 期。这些磷酸化过程是造成动物细胞有丝分裂期中多种形态学特征发生变化的原因。这些变化包括染色体浓缩、核膜解体、内质网和高尔基体重新组织，细胞与其他细胞或胞外基质的黏附发生松弛，以及细胞骨架发生彻底重组以使负责隔离已复制染色体和分隔子细胞的高度有序运动得以发生。

后期促进复合物（anaphase-promoting complex，APC，在第 17 章中已讨论）介导的靶

蛋白降解过程在有丝分裂中具有同样重要的调控作用。这一过程引发已复制染色体的分离和隔离，并在有丝分裂的最后使 M-Cdk 失活。

我们从 M 期的概述开始这一章；然后依次讨论有丝分裂和胞质分裂，在此主要聚焦于动物细胞；最后我们会关注一下 M 期可能经历过的进化过程。我们将在第 20 章中讨论细胞减数分裂的特殊特征，在那一章中我们将描述生殖细胞的发展过程。

M 期概述

一个处在 M 期的有丝分裂细胞的中心问题是如何精确地分离和分配（隔离）它的已经在之前的 S 期被复制的染色体，从而使每个子细胞得到一个单独拷贝的基因组（图 18-1）。除了一些微小的差别，所有真核细胞都以相似的方法解决这一问题：它们集合特定的细胞骨架机器——首先把两套重复染色体拉开，而后将细胞质分为两半。然而，在有丝分裂中已被拷贝的染色体得以被分离并平均分配到两个子细胞之前，它们必须被恰当地定形，而这一过程起始于 S 期。

粘连蛋白和凝缩蛋白协助已复制染色体的定形以便分离

当染色体在 S 期被复制时，已复制染色体的两个拷贝仍然紧密结合在一起形成同一个姐妹染色单体（sister chromatid）。姐妹染色单体被一种称为**粘连蛋白（cohesin）**的多亚基蛋白复合体黏合在一起，这种复合体在 DNA 被复制时沿每个姐妹染色单体的长轴堆积。这种位于姐妹染色单体之间的粘连蛋白对于染色体的分离过程至关重要，并且只在有丝分裂的晚期（后期开始时）才解体，使姐妹染色得以被拉开。

细胞即将进入 M 期的第一个显著的标志是双倍染色体的剧烈压缩，这使得染色体成为可见的线状结构——这一过程称为**染色体浓缩（chromosome condensation）**。以人类为例，每个

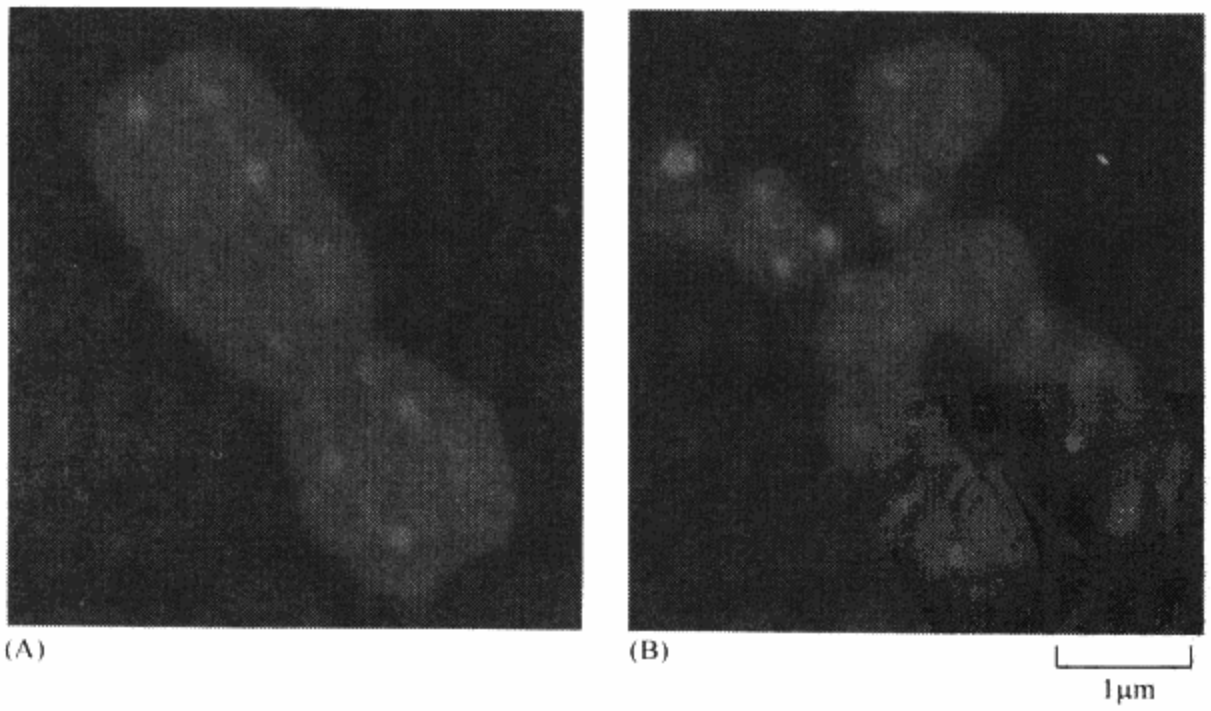
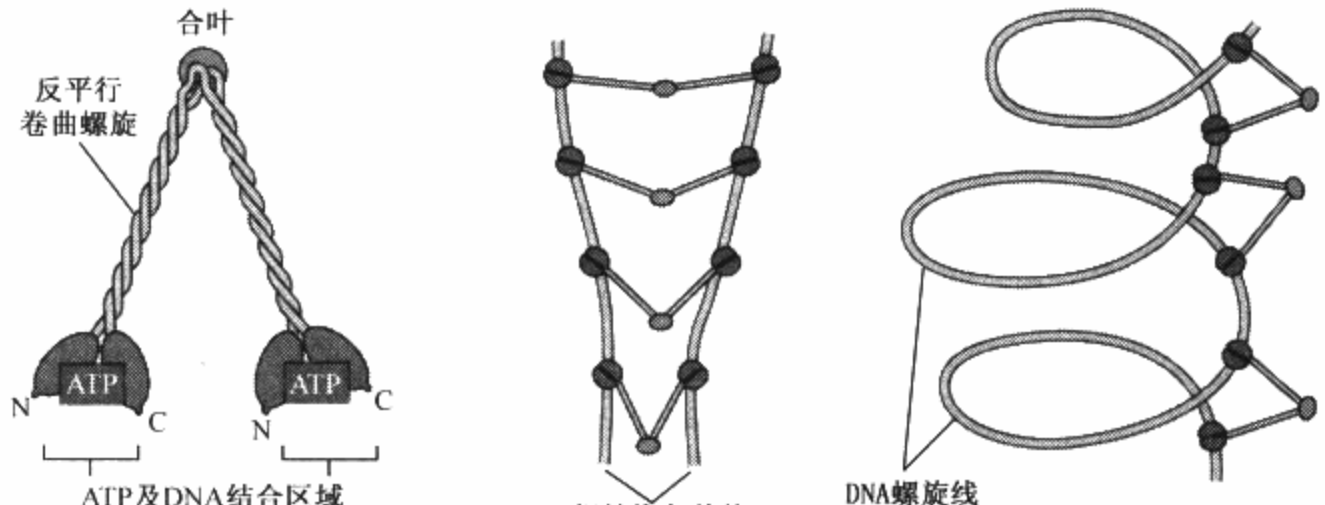


图 18-2　人减数分裂期的染色体染色以显示沿染色体长轴的脚手架状结构

在这些共焦荧光显微照片中，DNA 用蓝色染料染色，其轴部用凝缩蛋白复合体中一种蛋白质的荧光抗体染成红色。视野中只有部分的脚手架结构是可见的。（A）一个典型的有丝分裂期染色体，它经历了逐渐卷曲并沿每条染色单体脚手架式排列。（B）人工固定于有丝分裂中期的细胞中的中期染色体；在这些细胞的染色体中，脚手架结构通过进一步螺旋折叠继续浓缩（经 Ulrich Laemmli and Kazuhiro Maeshima 许可）

间期染色体在复制之后进入有丝分裂时会缩短 50 倍（图 18-2）。正如在第 4 章讨论的，被称为**凝缩蛋白（condensin）**的蛋白质执行了染色体的浓缩工作。被激活的 M-Cdk 将一些凝缩蛋白的亚基磷酸化，触发凝缩蛋白复合体在 DNA 上的聚合，而后，染色体在这种情况下被激烈地压缩。在试管中，凝缩蛋白可以利用 ATP 水解的能量促进 DNA 的卷曲，并且它被认为在细胞内染色体浓缩时进行了同样的工作。通过一种至今尚不清楚的机制，它们最终产生出充分浓缩的减数分裂染色体，每个姐妹染色单体分别被组织在一个直线中轴周围，在那里集中分布着凝缩蛋白（图 18-2）。

粘连蛋白和凝缩蛋白在结构上是相关的，并且它们在定形已复制染色体以准备有丝分裂时共同工作。遗传学研究显示，如果染色单体粘连蛋白没有在 S 期被适当地定位，在 M 期整个浓缩过程都无法发生，并且在后期染色体的隔离发生异常。在图 18-3 中所示的是一个解释粘连蛋白如何将两个 DNA 分子胶连在一起以及与其紧密相关的凝缩蛋白如何连接单个 DNA 分子并引发其超螺旋和浓缩的模型。



(A) 凝缩蛋白或黏连蛋白双体　(B) 姐妹染色单体由粘连蛋白黏结　(C) DNA被凝缩蛋白卷曲

图 18-3　粘连蛋白和凝缩蛋白的相关结构和功能

（A）两种蛋白质都在一端具有两个独立的 DNA 及 ATP 结合区域，在另一端具有一个合叶，并由两条长条卷曲螺旋区域连接。这种松弛的结构很适合它们作为 DNA 交叉连接物的角色。（B）粘连蛋白交叉连接两条临近的姐妹染色单体，将其黏结在一起。（C）在染色体浓缩过程中，凝缩蛋白在介导与卷曲 DNA 的分子内交叉连接（改编自 T. Hirano, *Genes and Dev.* 13：11～19，1999）

在芽殖酵母中，粘连蛋白复合体的突然降解和释放使得姐妹染色单体在减数分裂后期分开。相比之下，在脊椎动物细胞中，多数粘连蛋白在有丝分裂的开始就被从染色体释放出来，与此同时，凝缩蛋白结合并驱动浓缩过程。尽管如此，剩余的少量粘连蛋白已经足够姐妹染色单体结合在一起直到减数分裂后期，这时，剩余的粘连蛋白被降解，使染色单体分离，正如我们下面即将讨论的那样。

细胞骨架机器在有丝分裂和胞质分裂中都发挥作用

染色体浓缩之后，两部不同的细胞骨架机器依次组装以执行有丝分裂和胞质分裂的机械过程。两部机器都在完成各自任务后迅速解体。

为了产生两个基因完全相同的子细胞，母细胞必须分离已复制的染色体并将两份拷贝分别分配到每个子细胞。在所有真核细胞中，这一任务由一种双极性的有丝分裂纺锤体（mi-

totic spindle）在有丝分裂过程中执行，这种结构由微管和多种与其相互作用的蛋白质构成，包括微管依赖性马达蛋白（microtubule-dependent motor protein，在第 16 章中讨论）。

不同的细胞骨架结构负责胞质分裂。在动物细胞和很多单细胞真核生物中，这一结构是收缩环（contractile ring），而在多数植物细胞中为成膜体（phragmoplast）。收缩环同时包含肌动蛋白和肌球蛋白丝，并环绕细胞赤道紧贴质膜形成；随着环的收缩，它拉动细胞膜内向收缩，以此将细胞一分为二（图 18-4）。具有细胞壁阻碍的植物细胞在分离其细胞质时采取不同的机制。正如我们稍后即将讨论的，成膜体在细胞内两部重复染色体之间生成新的细胞膜，而不是利用作用于质膜的收缩环。

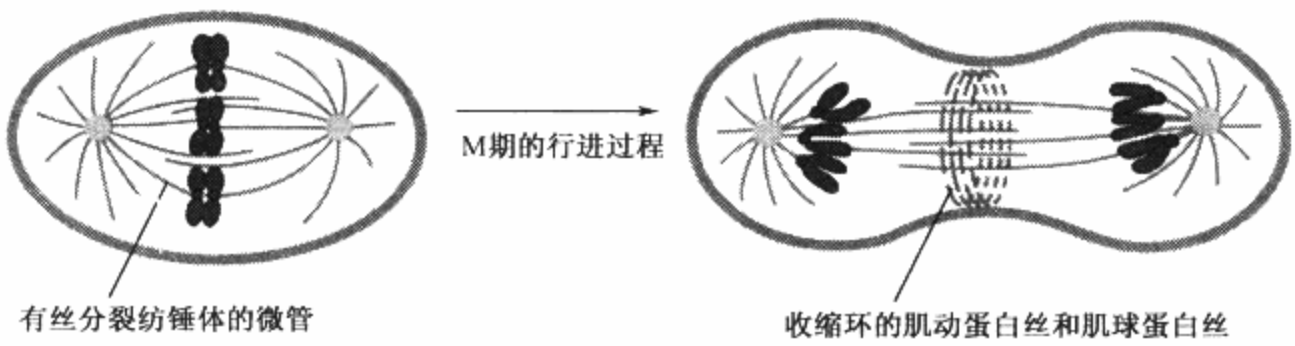


图 18-4　在 M 期运作的两套细胞骨架机器

有丝分裂纺锤体首先聚合并隔离染色体。收缩环随后形成并将细胞一分为二。植物细胞利用十分不同的机制来分离细胞质，如我们随后讨论的

两个机制帮助确定有丝分裂总发生在胞质分裂之前

在动物细胞中，M 期只持续大约 1h，在往往长达 12～24h 的细胞周期中只占到很小一部分。周期中的其他部分被**间期**占据。在显微镜下，间期表现为看似平静的间隔时间，其间细胞只在体积上持续增长。然而，其他的技术显示间期实际上对于一个增殖的细胞是一段忙碌的时间，在这段时间中为细胞分裂而做的精心准备正在依照严格的次序发生着。在间期完成两个关键的准备工作是 DNA 的复制和染色体的备份。

如在第 17 章中讨论的，Cdk 和蛋白质水解复合体活动中的循环震荡驱动着细胞周期的行进。Cdk 通过对结构蛋白或调节蛋白的直接磷酸化，或激活其他蛋白激酶行使这一任务而触发循环周期的多个步骤。蛋白质水解复合体通过降解关键的细胞周期相关蛋白质（如周期蛋白及 Cdk 抑制蛋白）激活循环中的特殊步骤。如同拉闸一般，Cdk 和蛋白质水解复合体的活动触发通常是不可逆的细胞周期转换。这样，为了使细胞进入 M 期，M-Cdk 的通行造成染色体浓缩，核被膜解体，以及微管动力学方面的戏剧性变化，这一切都是由于控制这些过程的调控蛋白的磷酸化触发的。

两个 M 期的主要事件［染色体分离（有丝分裂）和细胞质分裂（胞质分裂）］按照正确顺序发生是非常重要的（图 18-1）。如果胞质分裂发生在所有染色体在有丝分裂中被完全隔离之前，后果将是灾难性的。至少两种机制看起来似乎可以防止这一灾难发生。第一，激活有丝分裂所需蛋白质的细胞周期控制系统被认为使一些胞质分裂所需蛋白质失活；大概因为这个原因，胞质分裂不会发生在 M-Cdk 在有丝分裂即将结束时失活之前。第二，在有丝分裂纺锤体将两套染色体分离到细胞相对的两极之后，纺锤体剩余的中心区域需要参与维持一个功能性的收缩环（图 18-4）；这样，直到纺锤体将染色体分离并形成中心纺锤体之前，这个环无法将胞质一分为二。

动物细胞的 M 期依赖于发生在之前间期的中心体复制

对于动物细胞，在 M 期开始之前，两个关键的事件必须在间期完成，即 DNA 复制以及中心体的复制。DNA 需要被复制以使每个子细胞继承一份同样的基因组拷贝，同时中心体被复制以帮助有丝分裂纺锤体两极的形成并为每个子细胞提供各自的染色体。如我们稍后讨论的那样，染色体在有丝分裂晚期被隔离之后，从两个中心体放射出的微管向细胞皮层发出信号以协助胞质分裂平面的确定。这一过程确保分裂精确发生在两组分离的染色体的中间（图 18-4）。

，**中心体**是动物细胞中主要的微管组织中心（microtubule-organizing center）。它由一团无定型的物质［称为中心体基质（centrosome matrix）或中心粒旁质（pericentriolar material）］包绕着一对中心粒构成（图 16-24）。在间期，中心粒基质将一系列胞质微管聚集成核，它们迅速生长的正极朝细胞周界向外突伸，而负极则与中心体结合。基质包含很多种蛋白质，包括微管依赖性的马达蛋白，被认为将马达与中心体相连的卷曲蛋白，结构蛋白以及细胞周

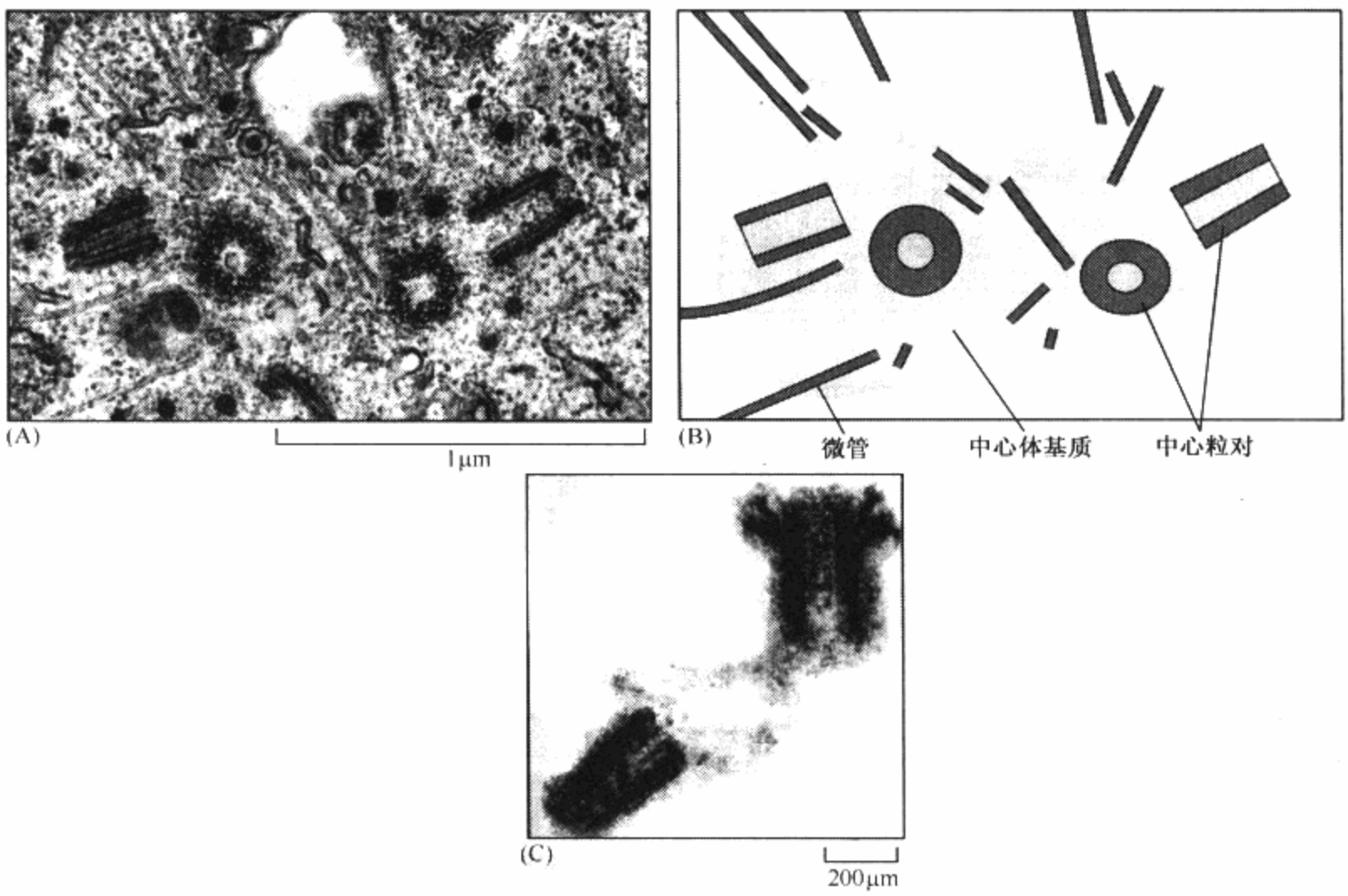


图 18-5　中心粒

（A）一个培养环境下哺乳动物细胞 S 期的电镜照片，显示了一个已复制的中心体。每个中心体包含一对中心粒；虽然中心粒已被复制，但它们仍然共同存在于一个复合体中，如绘制该照片的（B）中所示。一个中心粒对中的一个中心粒被沿垂直截面切开，同时另一个沿长轴被切，说明一对中的两个成员互相成直角排列。已复制中心体的两个半部分分别由基质包被着一个中心粒对组成，这两个部分将要在细胞进入 M 期时分开并远离以引发有丝分裂纺锤体的两极的形成（图 18-7）。（C）从细胞中分离出来的一个中心粒对的电镜照片。两个中心粒已经在分离操作中被部分分开，但仍然被纤细的纤维固定在一起，这些纤维保持中心粒对在它们应该分离的时刻前保持在一起（图 18-6）。两个中心粒都被沿长轴切开，现在可以看出这两个中心粒具有不同结构：母体相对子代更大且更复杂，并且，如图 18-6 所示，只有母中心粒联结着聚集着微管的基质。各个子中心粒将在下一个细胞周期中成熟，届时它们将复制出它们自己的子中心粒［（A）摘自 M. McGill，D. P. Highfield，T. M. Monahan，and B. R. Brinkley，*J. Ultrastruct. Res.* 57：43～53，1976. © Academic Press；（C）摘自 M. Paintrand et al.，*J. Struct. Biol.* 108：107～128，1992. © Academic Press］

期控制系统的组分。最重要的是，它包含**γ-微管蛋白环状复合体（γ-tubulin ring complex）**，该复合体主要负责微管成核的组分（图 16-22）。

中心体的复制和分离过程被称为**中心体循环（centrosome cycle）**。在每个动物细胞周期的间期段，中心粒和中心体的其他组分被复制（通过一种未知机制），但仍然在一起形成一个单独的复合体，处在细胞核的一侧（图 18-5）。当有丝分裂开始，这一复合体分裂为两个，并且每对中心粒成为一个独立的微管组织中心的一部分，这个组织中心聚集着放射状排列的微管，这组微管称作**星状体（aster）**（图 18-6）。两个星状体移动到细胞核的相对两侧从而引发减数分裂纺锤体两极的形成。当核被膜解体（在前中期），纺锤体捕获染色体；它将在有丝分裂结束前把它们分开（图 18-7）。随着有丝分裂结束和核被膜在分离的染色体周围重组，每个子细胞胞得到了一个与其染色体相联合的中心体。

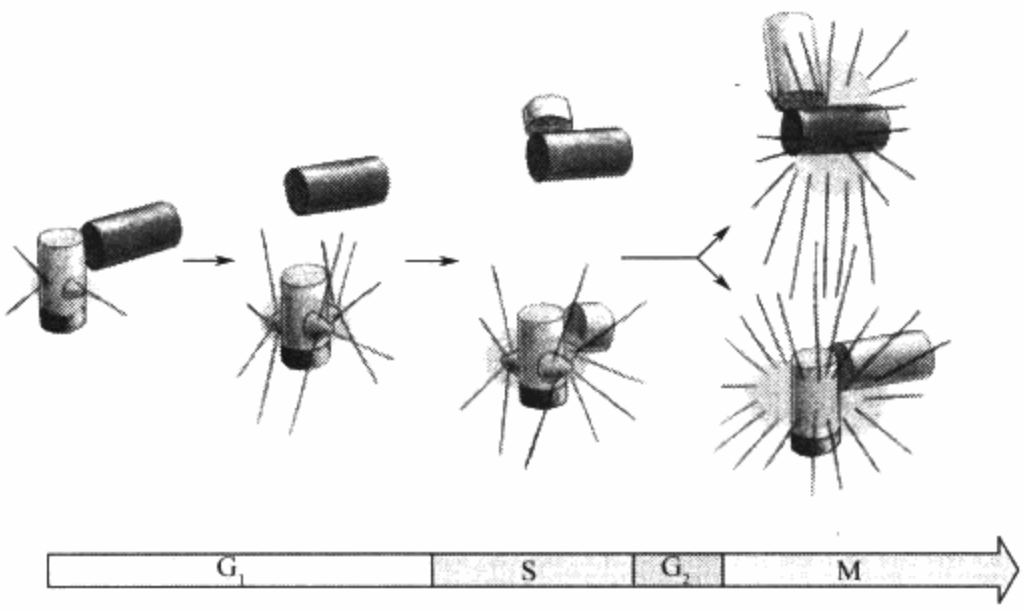


图 18-6　中心粒复制

中心体包含一个中心粒对及其相连的基质（绿色）。在 G_1 的一个特定点，一对中的两个中心粒会分离开几微米。在 S 期，一个子中心粒开始在每个母中心粒靠近基部生长并且与母体成直角。子中心粒的延长通常在 G_2 期前完成。两个中心粒对在 S 期开始前在同一个中心体复合体中保持紧密的挨在一起（图 18-7），之后，这个复合体分裂为二并且每半个部分开始分离。每个中心体现在都聚集着它们自己的放射状的微管序列，即星状体

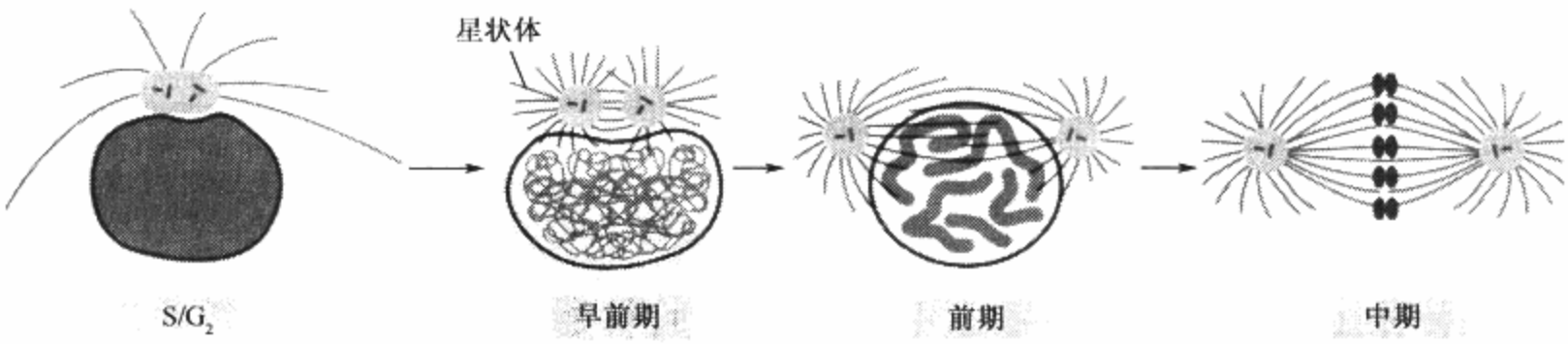


图 18-7　中心体循环

增殖的动物细胞中的中心体在间期复制以准备有丝分裂。在大多数动物细胞中，一个中心粒对（这里表示为一对暗绿色条杠）与聚集向外生长的微管成核的中心体基质（浅绿色）相联结（为了表示清楚中心体基质的体积在这张图中被夸大；图 18-6 给出了更为准确的表示。）中心粒的复制在 G_1 期开始结束于 G_2 期之前（图 18-6）。最初这两对中心粒和与之相连的中心体基质保持在一起形成一个单独的复合体。在 M 期早期，这个复合体分离为两个，每个聚集了各自的星状体。最初两个紧挨着的并靠近核被膜的星状体逐渐分离。到前期的晚期时，在两个星状体间相互作用的微管随着两个星状体沿细胞核外侧的分离首先延长。通过这种方式，一个两极的有丝分裂纺锤体迅速形成。在中期，核被膜解体，使得纺锤体微管能够与染色体相互作用

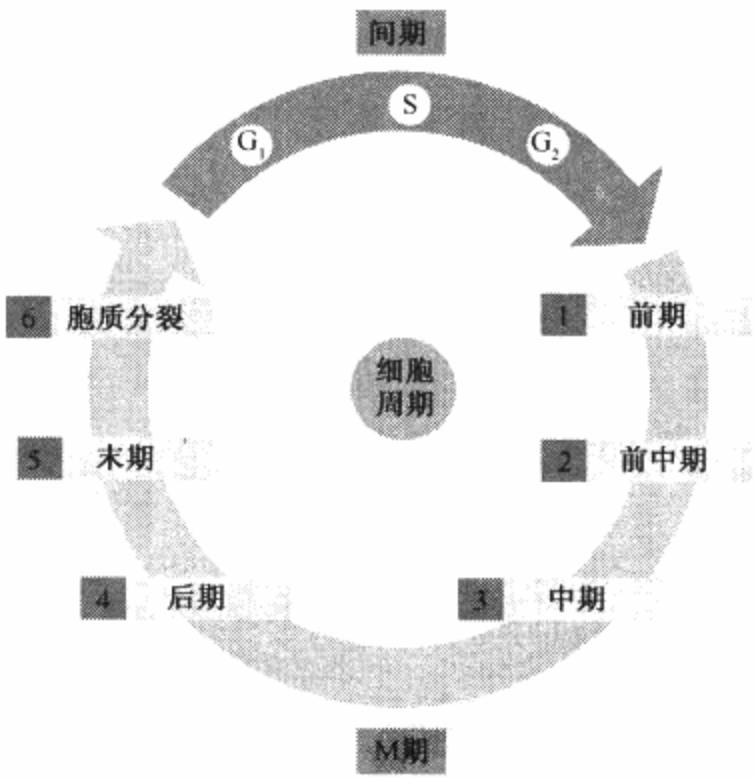
在早期胚胎细胞周期中，中心体循环甚至可以在细胞核被物理性移出或者核 DNA 复制被抑制 DNA 合成的药物阻滞的情况下运行。在这种情况下，染色体复制和分离的循环进程基本正常，首先产生两个中心体，然后 4 个，而后 8 个，以此类推。从爪蟾（*Xenopus*）（图 17-9）中提取的卵细胞可以在试管中支持多轮中心体复制过程的发生。这一系统已经被用于检测细胞周期控制系统的单个蛋白质组分激发中心体复制的能力。这些实验显示，在 S 期引发 DNA 复制的 G_1/S-Cdk（周期蛋白 E 与 Cdk2 形成的复合体）（在第 17 章讨论）同样激发中心体的复制，这也许解释了为何中心体的复制起始于 S 期。

M 期传统上被分为 6 步

M 期的前 5 步组成**有丝分裂**，这一过程最初被定义为染色体显著浓缩的时期。胞质分裂发生在第 6 步，这一步与有丝分裂的最后时段有重合。这 6 个步骤组成了一个动力学序列，在这个序列中，多种独立的循环，包括染色体、细胞骨架以及中心体，必须协同进行，从而产生出两个基因完全相同的子细胞。发生在 M 期的各个步骤总结在专题 18-1 中。尽管如此，M 期的复杂和美丽是很难用文字描述或者静态的图片来赞美的。

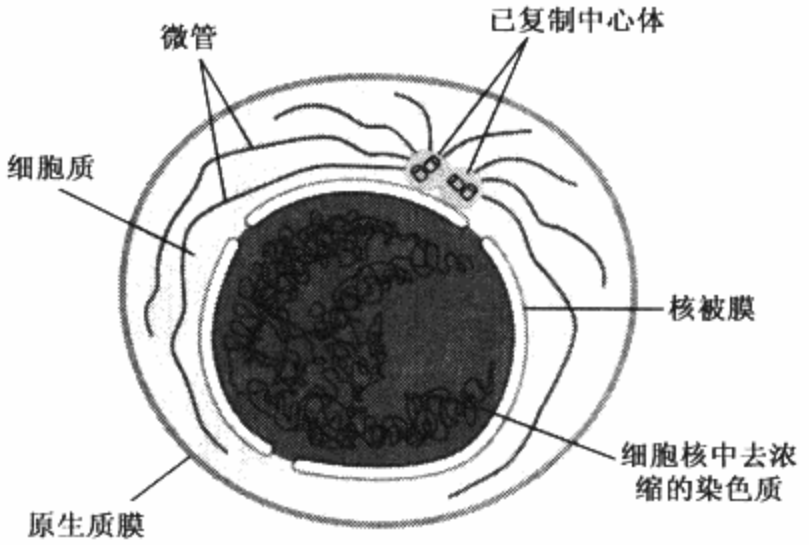
专题 18-1　动物细胞 M 期的主要步骤（有丝分裂和胞质分裂）

细胞分裂和细胞周期



一个细胞分裂为两个的过程发生在细胞周期中的 M 期。M 期包括核分裂（有丝分裂）和胞质分裂（胞质分裂）。在这幅图中，为了显示清楚，M 期被扩大了。有丝分裂本身被分为 5 个步骤，这些步骤连同胞质分裂会在这个专题中描述。

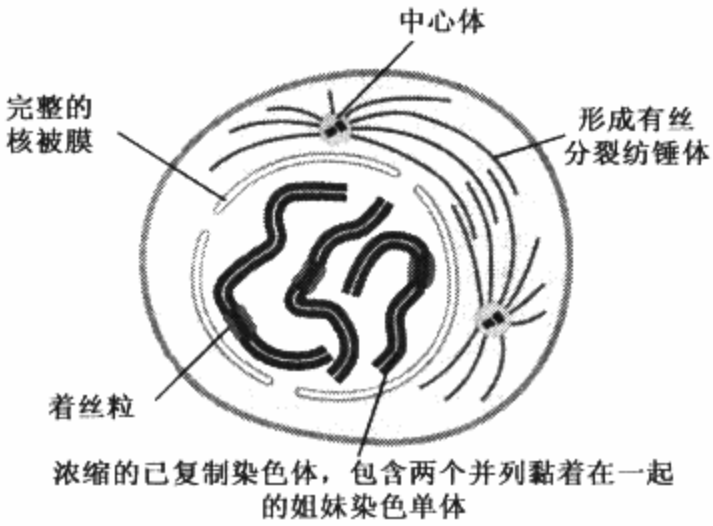
间期



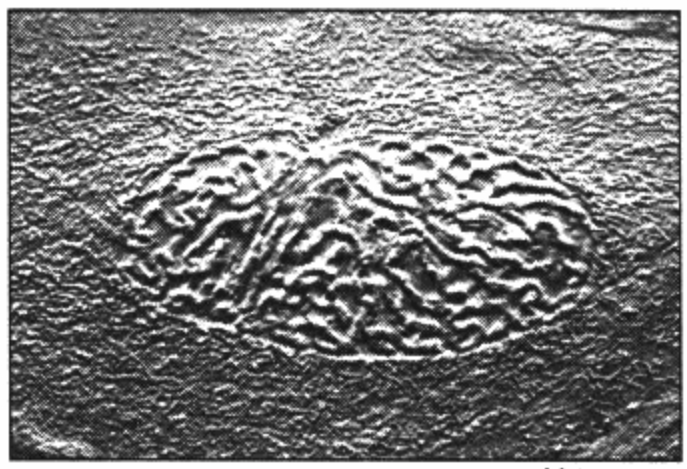
在间期，细胞的体积增长，染色体 DNA 被复制，中心体被备份。

专题中出示的光学显微照片为活的蝾螈肺上皮细胞。同样的细胞已经在其分裂的不同时刻，在微分干涉相差显微镜下观察并摄影（经 Conly L. Rieder 许可）。

1 前期

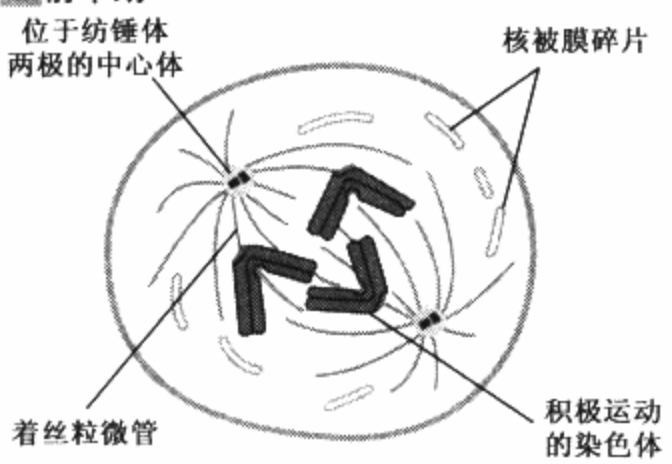


在前期，含有连个紧密相连的姐妹染色单体的已复制的染色体开始浓缩。在细胞核外，有丝分裂纺锤体在两个已复制并远离的中心体间形成。简单起见，只画出了 3 条染色体。在双倍体细胞中，每条父染色体含有 2 个拷贝。



时间=0min

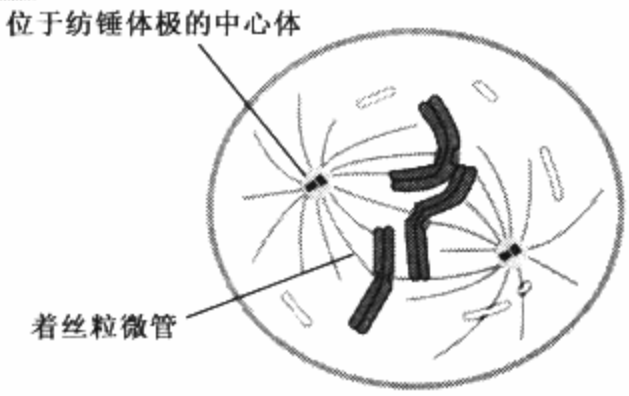
2 前中期



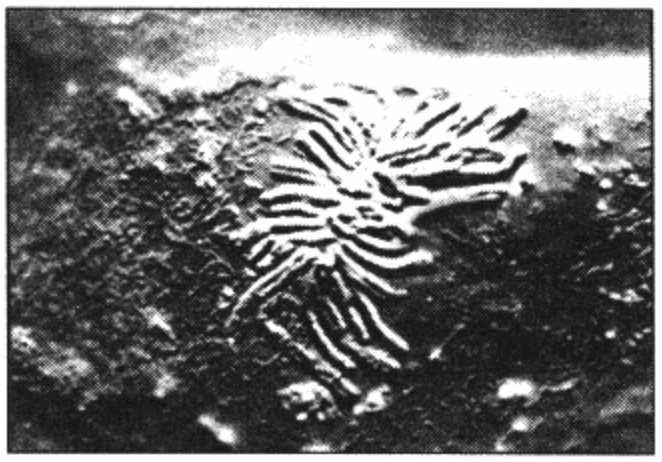
前中期随着核被膜的解体突然开始。染色体现在可以通过它们的着丝粒附着到纺锤体微管并积极运动。

时间=79min

3 中期

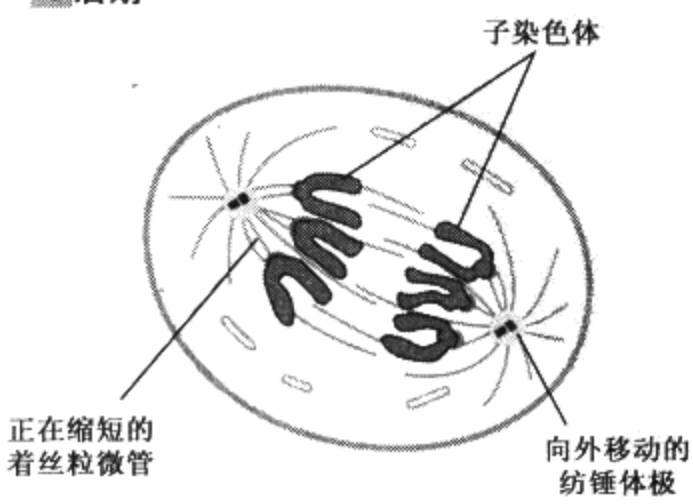


在中期，染色体排列在纺锤体两极中间的赤道面上。着丝粒微管将姐妹染色单体联结到纺锤体相对的两极。

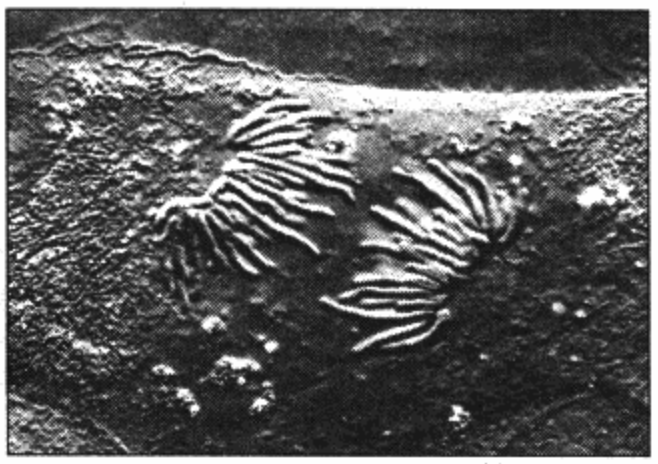


时间=250min

4 后期

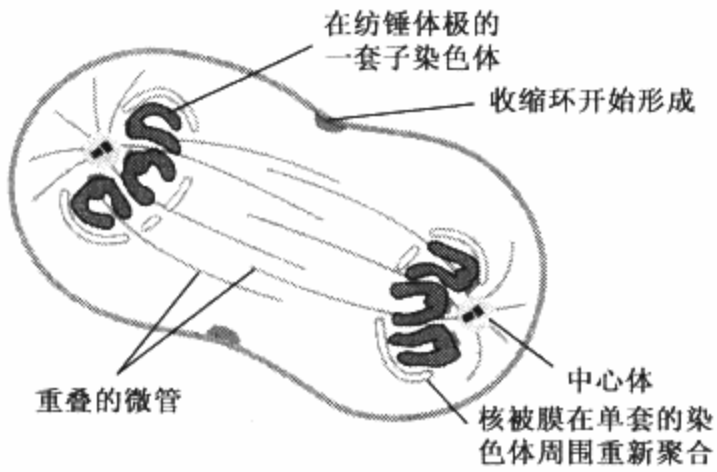


在后期，姐妹染色单体同步分离，形成两套子染色体，并且它们分别被缓缓拉向面向的两极。着丝粒微管开始变短，纺锤体两极也逐渐分开；两个过程都对染色体的分离起到作用。

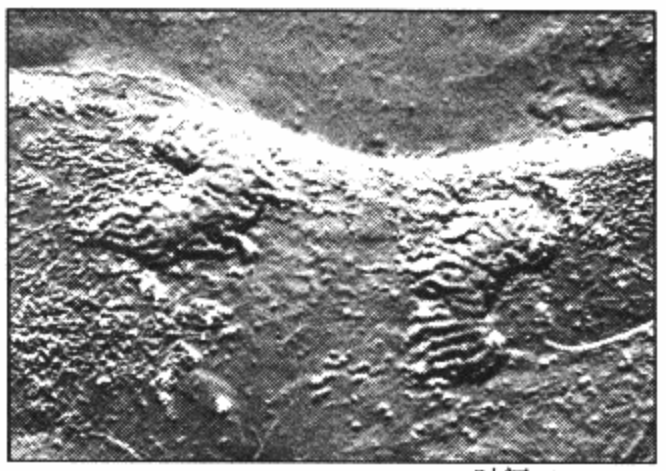


时间=279min

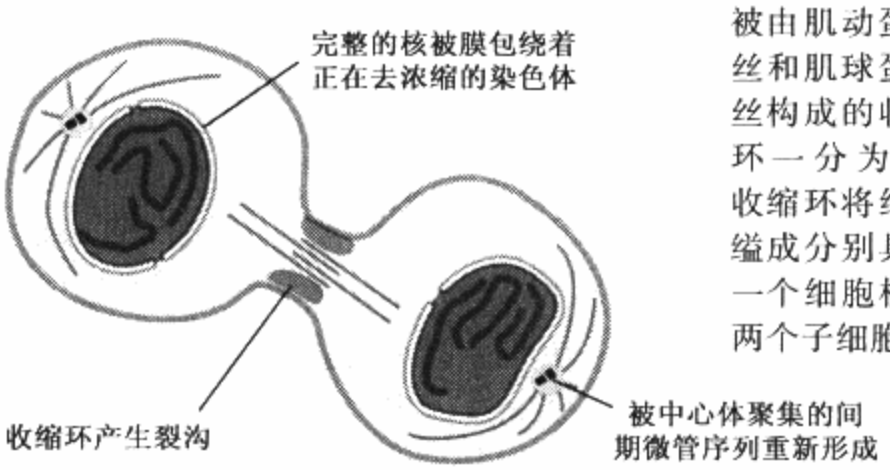
5 末期



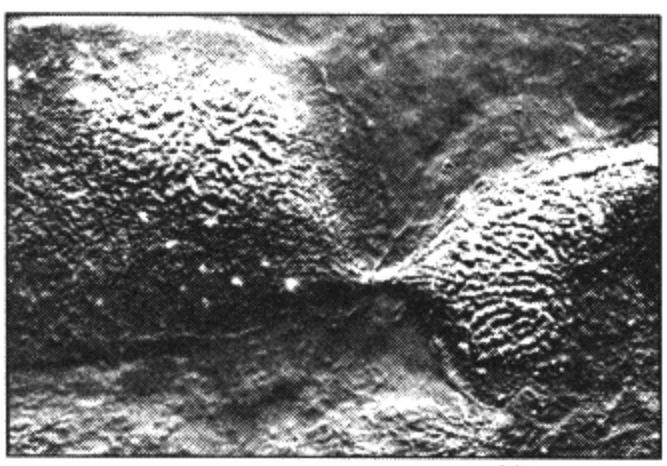
在末期，两套子染色体到达纺锤体的两极并开始去浓缩。围绕着每套染色体，新的核被膜开始形成，完成两个细胞核的形成并结束有丝分裂。细胞质的分裂随着收缩环的聚合开始发生。


时间=315min

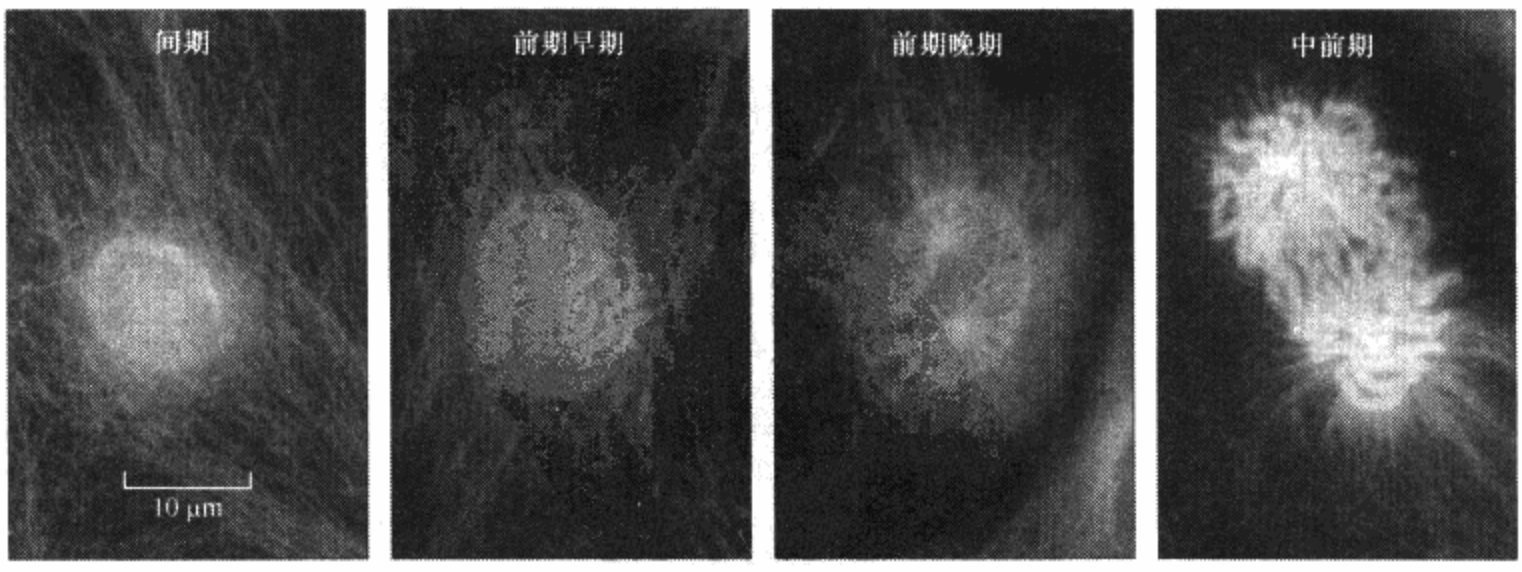
6 胞质分裂



在胞质分裂过程中，细胞质被由肌动蛋白丝和肌球蛋白丝构成的收缩环一分为二，收缩环将细胞缢成分别具有一个细胞核的两个子细胞。


时间=362min

有丝分裂的 5 个步骤（前期、前中期、中期、后期和末期）是按照严格的顺序发生的，胞质分裂则开始于后期并持续贯穿末期。典型的动物细胞和植物细胞分裂过程的光学显微镜照片在图 18-8 和图 18-9 中分别出示。在前期，已复制的染色体随着细胞骨架的重组逐步浓缩。在中期，染色体排列在有丝分裂纺锤体的赤道面上，在后期它们被分开到纺锤体的两极。细胞质分裂在末期的最后完成，每个子细胞的细胞核和细胞质随后转入间期，标志着 M 期的结束。



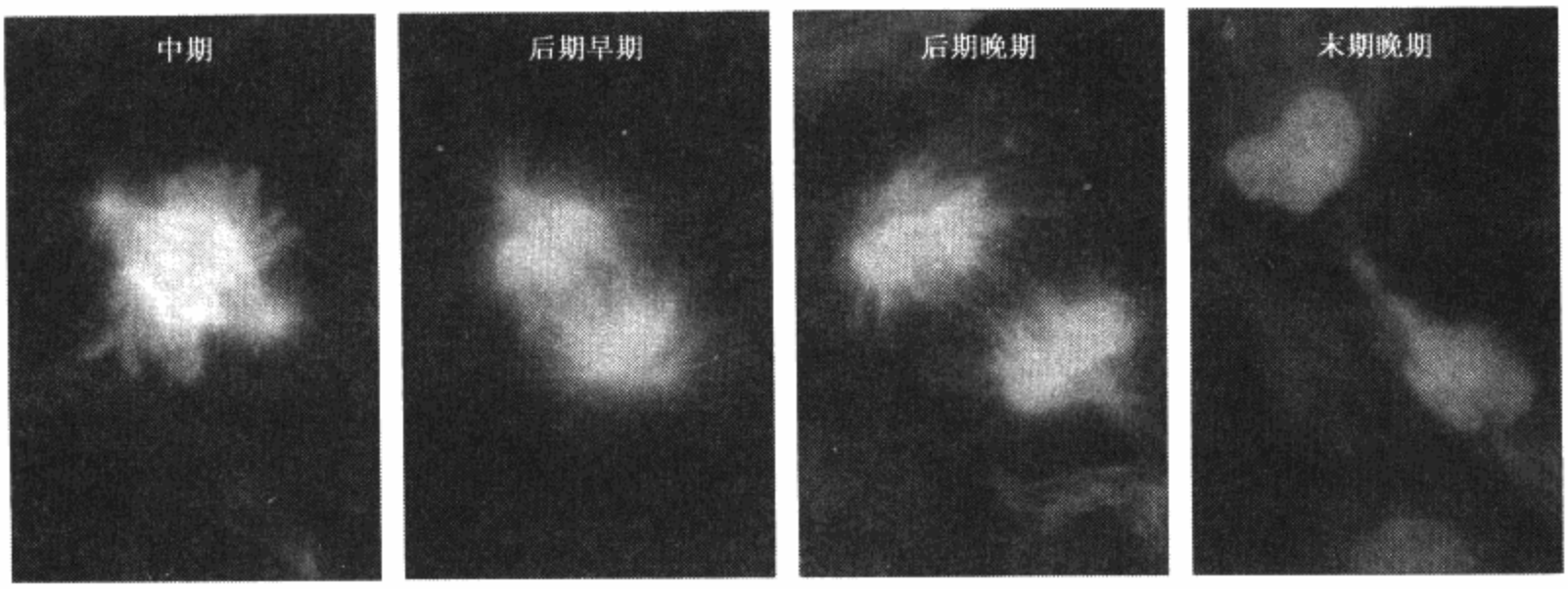


图 18-8　典型动物细胞的有丝分裂过程

在这些培养环境下的蝾螈肺上皮细胞显微照片中，微管（绿色）已经用免疫荧光标记，同时染色质用蓝色荧光染料着色。在间期，中心体（不可见）形成间期微管序列的焦点。到了前期早期，含有两个中心粒对（不可见）的中心体分裂，并且造成两个星状体发生可见的分离。在前中期，核被膜解体，使得纺锤体微管与充分浓缩的染色体相互作用。在中期，纺锤体的两极结构清晰，并且所有染色体都排列在纺锤体的赤道面。在后期早期，所有姐妹染色单体同步分离，并且在微管的影响下，子染色体开始向两极移动。到了后期晚期，纺锤体两极已经远离，增加了两套染色体的分离程度。在末期，子细胞核重新形成，并且到了末期后期，胞质分裂几乎完成，而中间体（以后讨论）仍然处在两个子细胞之间（照片经 C. L. Rieder，J. C. Waters 和 R. W. Cole 许可）

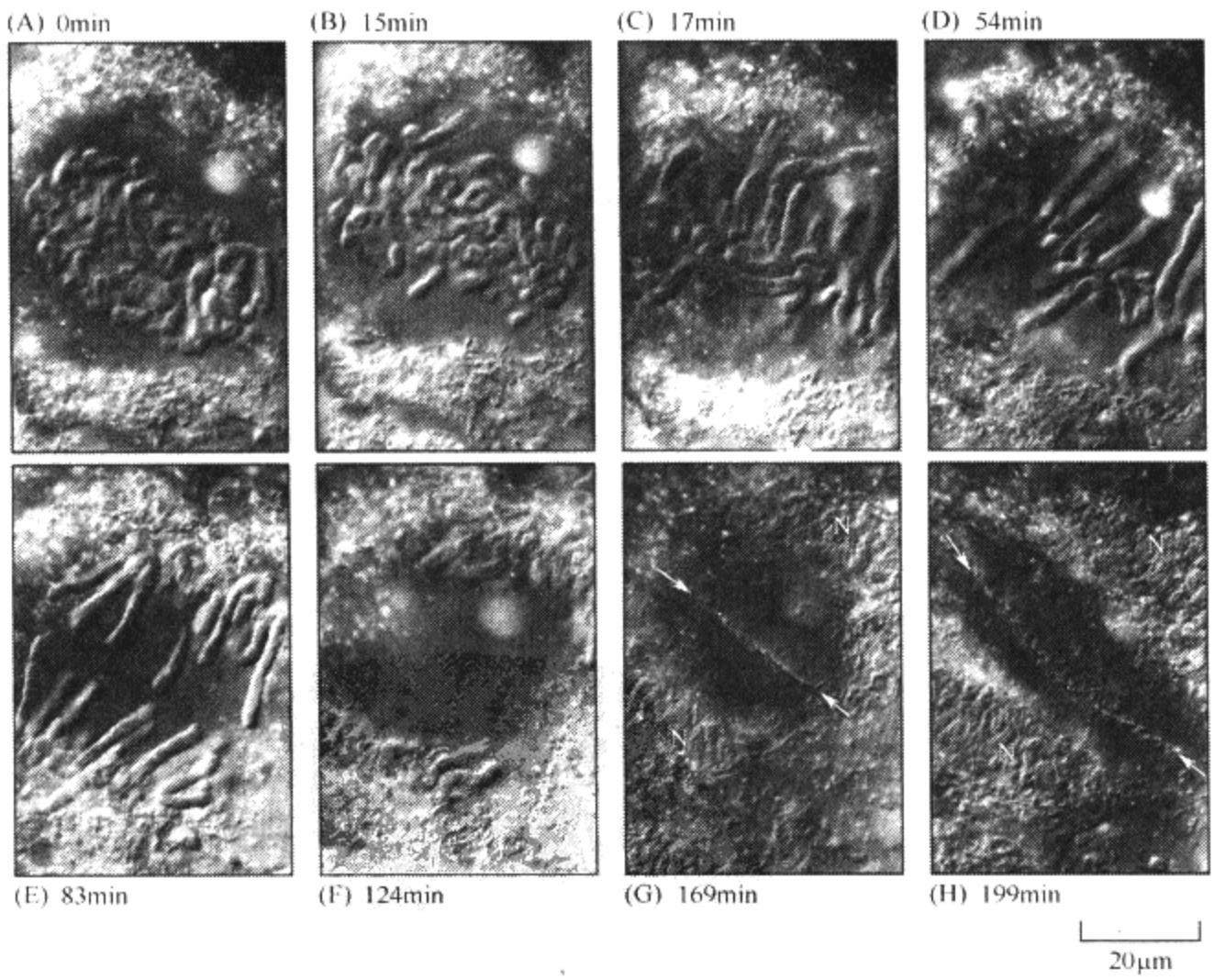


图 18-9　植物细胞有丝分裂的过程

这些活百合（*Haemanthus*）细胞的光学显微照片在特定的时刻利用微分干涉对比显微技术拍摄。细胞通常具有大型易见的染色体。（A）在前期，染色体浓缩并且在细胞核中清晰可见。（B）和（C）在前中期，核被膜解体，染色体与发出于纺锤体两极的微管发生相互作用。植物不含有中心体，但其纺锤体两极含有与来自动物中心体基质的蛋白质相关的蛋白质。（D）在中期，染色体在纺锤体的赤道面排列。（E）在后期，子染色体分离并开始移向相反的两极。（F）在末期，染色体浓缩，子细胞核重新形成（不可见）。（G）和（H）在胞质分裂过程中，一道新的细胞壁（细胞板，红色箭头所示）在两核（N）间形成（经 Andrew Bajer 许可）

小结

细胞分裂发生在M期，这一时期包括核分裂（有丝分裂）和随后的细胞质分裂（胞质分裂）。DNA在之前的S期被复制；两套重复的染色体（称为姐妹染色单体）通过粘连蛋白保持胶连在一起。在M期开始时，称为凝缩蛋白的粘连蛋白相关蛋白质连接到已复制的染色体并使它们剧烈地浓缩。在所有真核细胞中，一个基于微管构成的纺锤体负责隔离染色体。动物中的有丝分裂纺锤体从微管星状体延伸出来，该结构在S期开始形成，并分别形成在每个中心体复制时产生的两个中心体的周围；在M期的初始，已备份的中心体分离并移向细胞核相反的两侧，以起始纺锤体两极的形成。一个由肌动蛋白和肌球蛋白为基础的收缩环负责细胞质分离，这一结构存在于动物和很多单细胞真核生物中，但不存在于植物细胞。

有丝分裂

已复制染色体的隔离依赖于具有多个运动部分的复杂细胞骨架机器——有丝分裂纺锤体。纺锤体由微管及其相关蛋白质构成，这些蛋白质负责将子染色体向纺锤体两极拉开和使两极远离。

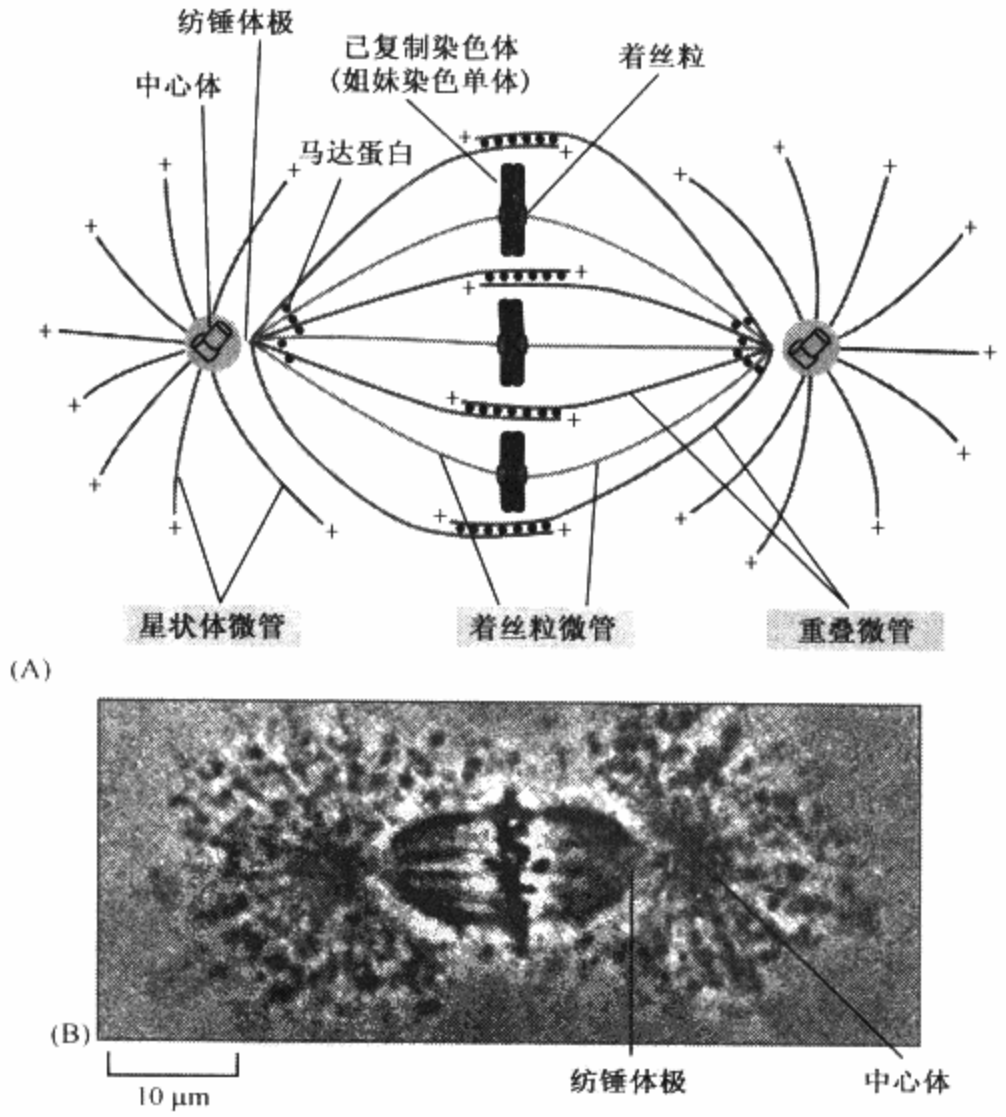


图 18-10　构成动物细胞完整纺锤体的三类微管

(A) 事实上，染色体所占比例远比图中所绘的大，而且每个着丝粒连接着多根微管。注意微管的正极从中心体延伸出来，同时负极锚定在纺锤体两极。尽管中心体引发了纺锤体两极的聚合，然而它所聚集的多数着丝粒微管和重叠微管从中心体的发出以及在极点的固定和组织却由马达蛋白完成。为了简洁，在本章的其他图中，我们把所有纺锤体微管都画成从中心体极点发出。(B) 一个单独的中期有丝分裂纺锤体的相位差显微照片，染色体在纺锤体赤道排列

(B，摘自 E. D. Salmon and R. R. Segall, *J. Cell Biol.* 86：355～365，1980. © The Rockefeller University Press)

正如我们已经知道的，纺锤体于染色体在前期浓缩时开始在细胞核外形成。当核被膜在中前期解体，纺锤体微管得以俘获染色体，并且染色体最终排列在纺锤体赤道面上，形成中期板（metaphase plate）（见专题 18-1）。在后期，姐妹染色单体突然分离，并被向纺锤体的相反两极牵引；大约在同时，纺锤体发生拉长，增加了两极的分离程度。纺锤体在末期继续增长，此时染色体到达两极并从纺锤体微管上被释放，在其周围核被膜重新形成。

有丝分裂纺锤体的组装和发挥功能都依靠微管依赖性的**马达蛋白**（microtubule-dependent motor protein）。如在第 16 章讨论的，这些蛋白质分属于两个家族——通常向微管正极移动的**驱动蛋白相关蛋白**（kinesin-related protein）和通常向负极运动的**胞质动力蛋白（dynein）**。在有丝分裂纺锤体中，马达蛋白在微管的极点或极点附近行使功能。这些极点不仅是微管聚合和解聚的位点，同样是动力产生的位点。有丝分裂纺锤体的聚合和发动依赖于对立的正极向马达蛋白和负极向马达蛋白之间的动态平衡。

动物的有丝分裂细胞纺锤体微管可以分为三类（图 18-10）。**星状体微管（astral microtubule）**从中心体中向各个方向辐射，被认为对分离两极的动力产生起到作用。它们还在纺锤体在细胞中的定向和定位过程中起到“操作杆”的作用。**着丝粒微管（kinetochore microtubule）**则以端点结合着形成在每条已复制染色体着丝点上的着丝粒（kinetochore），使染色体结合到纺锤体上。**重叠微管（overlap microtubule）**在纺锤体的赤道上交错排列，使得纺锤体具有两极对称的形状。所有这三类微管都是正极从中心体伸出。目前认为各种微管的行为差异是缘于结合在它们正极和负极上的不同蛋白质复合体。

微管在 M 期不稳定性显著增强

在有丝分裂**前期**，细胞质中的有丝分裂纺锤体开始自组装。在动物细胞中，每套已复制染色体聚集了各自的微管序列，并且两套微管相互作用以形成纺锤体。我们稍后会看到自组装过程依赖于来自纺锤体自身并由结合在纺锤体微管上的马达蛋白产生的相反力量的平衡。

许多间期的动物细胞含有从单个中心体辐射而出的细胞质微管序列。正如在第 16 章讨论过的，这种间期微管序列是处在**动力学不稳定状态**的，这些序列中的单根微管不断地伸长或缩短，并且在这两种状态间随机转换。从生长到收缩的转换被称为“灾难”（catastrophe），从收缩到生长称为“挽救”（rescue）（图 16-11）。新生的微管不断的被制造以平衡那些因解聚作用造成的损失。

有丝分裂前期标志着细胞微管的突然改变。间期序列中相对较少的长微管迅速变为多于短微管的数量，并且围绕着每个中心体动力微管增多。在前期里，微管的半衰期剧烈变短。这一现象可以通过用荧光标记、微管蛋白亚基标记或细胞微管观察到（图 18-11）。随着微管的不稳定性增加，从中心体辐射出来的微管数目也显著增加，很显然，这是因为中心体自身的转变提升了聚集新微管的速率。那么细胞周期

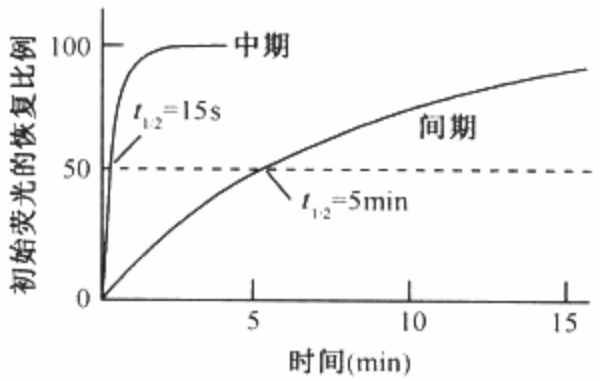


图 18-11　有丝分裂时期微管的半衰期
一般来说，M 期细胞的微管远比间期微管的动力学活性高。向培养环境下的哺乳动物细胞注射共价连接了荧光染料的微管蛋白，当荧光微管蛋白与细胞微管融合后，用一束强激光可以在小区域里使所有荧光被漂白。微管变亮区域荧光的恢复是由于由溶液中未被漂白的荧光微管蛋白形成的微管取代造成的，这一过程被作为时间函数进行监控。荧光恢复 50%所用时间（$t_{1/2}$）被认为与区域中一般微管解聚并重新形成所需的时间相等（数据来自 W. M. Saxton et al., *J. Cell Biol.* 99: 2175～2187, 1984. © The Rockefeller University Press）

控制系统又是如何在有丝分裂开始时触发细胞内微管的这一戏剧性变化呢？

M-Cdk 通过引发对两类蛋白质的磷酸化引起了这一变化，这一磷酸化过程控制着微管动力学特性（在第 16 章讨论）。这些蛋白质包括微管马达蛋白及**微管结合蛋白**（microtubule-associated protein，MAP）。这些调控因子在控制微管动力学特性方面的角色已经通过用爪蟾卵细胞提取液进行的实验得以了解，许多发生在完整细胞 M 期中的变化在这种材料中可以重复发生。当把中心体和荧光微管蛋白与从 M 期或间期细胞质的提取液混合，荧光微管蛋白会从中心体开始聚集，使得单个微管的行为可以利用缩时荧光显微视频法（time-lapse fluorescence video microscopy）进行分析。有丝分裂时期细胞提取液中的微管与间期细胞中的不同主要在于其增加的“灾难”几率，在这里它们从缓慢生长突然转变为迅速缩短。

成为**灾难蛋白**（catastrophin）的蛋白质通过增加灾难的频率使微管序列稳定性下降（图 16-36A）。灾难蛋白中有一种无马达功能的胞质动力蛋白相关蛋白。一般而言，MAP 具有和灾难蛋白相反的作用，即通过多种途径稳定微管：它们可以增加挽救的频率，在这一过程中微管从缩小变为增长；它们还能增加微管的生长速率或减小缩短速率。如此说来，在原则上，灾难蛋白和 MAP 的变化可以通过增加微管解聚的净速率，减少微管聚合的净速率，或者二者皆有，使微管在 M 期更加具有动力学活性。

在爪蟾卵提取液中，单独的一种灾难蛋白和单独一种 MAP 之间的平衡可以被显示出来，用来确定微管的灾难概率和稳态长度。这一平衡继而可以控制有丝分裂纺锤体的组装，因为

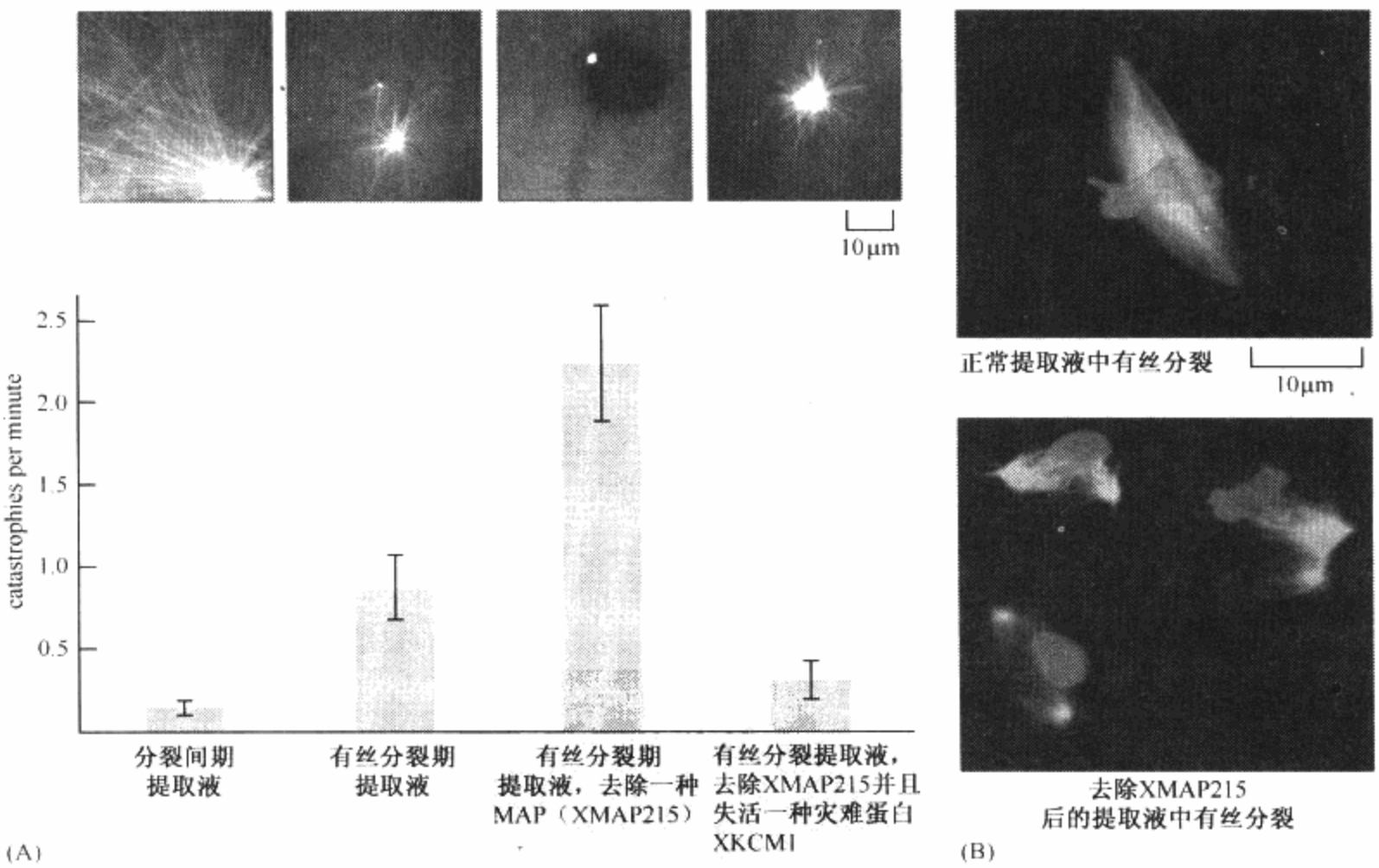


图 18-12　可以证明灾难蛋白和 MAP 之间的平衡影响微管灾难和微管长度的实验证据

（A）间期或者有丝分裂期的爪蟾卵细胞提取液加入中心体，并且聚集在中心体的个别微管的行为用荧光显微视频跟踪。正如期望的那样，有丝分裂期提取液的灾难发生率要高于间期提取液。有丝分裂提取液中的一种特殊的 MAP（XMAP215）的消耗可以显著增加灾难发生率，说明这种 MAP 在有丝分裂提取液中对灾难起抑制作用。通过加入抗体封锁一种特殊的灾难蛋白（胞质动力蛋白相关蛋白 XKCM1）的功能可以显著降低已耗尽 XMAP215 的有丝分裂期提取液的灾难率，说明这种灾难蛋白在有丝分裂提取液中通常负责激发灾难，并且灾难发生率取决于 MAP 和灾难蛋白之间的平衡。不同实验条件下形成的星状体的荧光纤维图像在最上面的面板出示；注意灾难率越高，微管越短。（B）当同时向有丝分裂细胞提取液中加入中心体和精子细胞核时，有丝分裂纺锤体的形成。微管用红色表示，中心体用蓝色。正常的纺锤体形成于正常的提取液，十分反常的纺锤体形成在 XMAP215 从提取液中被耗尽时，这可能因为中心体聚集的微管过短。引人注目的是，在混有纯净微管蛋白、XMAP215 和 XKCM1 的试管中形成的微管显示出正常的动力学不稳定性

（摘自 R. Tournebize et al.，*Nature Cell Biol*. 2：13～19，2000. © Macmillan Magazines Ltd）

太长或太短的微管都不能组装成纺锤体（图 18-12）。M-Cdk 控制微管长度的一种可能途径是使该 MAP 磷酸化并降低其稳定微管的能力。即使灾难蛋白的活性在细胞周期里保持恒定，MAP 和灾难蛋白两种相反活性之间的平衡仍会变化，并增加微管的动力学不稳定性。

细胞包含多种 MAP、灾难蛋白和马达蛋白，每种具有细微不同的活性。正是这些蛋白质相反活性之间的平衡决定了有丝分裂纺锤体的动力学行为。我们稍后将了解到这一平衡的改变是如何帮助纺锤体在后期隔离染色体的。

相反马达蛋白的相互作用和相反极性的微管驱动纺锤体组装

当 MAP 和灾难蛋白的平衡在 M 期早期的转化制造更多的动力微管时，另一种平衡，即负极向和正极向马达蛋白之间的平衡，也在帮助组装有丝分裂纺锤体。由于这些蛋白质中的一些形成可以交叉连接相邻微管的低聚物，故它们可以将一根微管相对于另一根移动，移动的方向依赖于马达蛋白和微管二者的极性。通过这种途径，这些马达蛋白能够利用聚集一组微管的极点形成焦点［图 18-13（A）］。另外，这些马达蛋白可以使反平行的微管彼此相对滑动［图 18-13（B）］。这两种不同的马达蛋白功能在纺锤体的组装和行使功能过程中起到了关键作用：它们制造微管负极的焦点形成纺锤体的两极，并且它们使反平行微管在纺锤体的重叠区彼此相对滑动（图 18-10）。

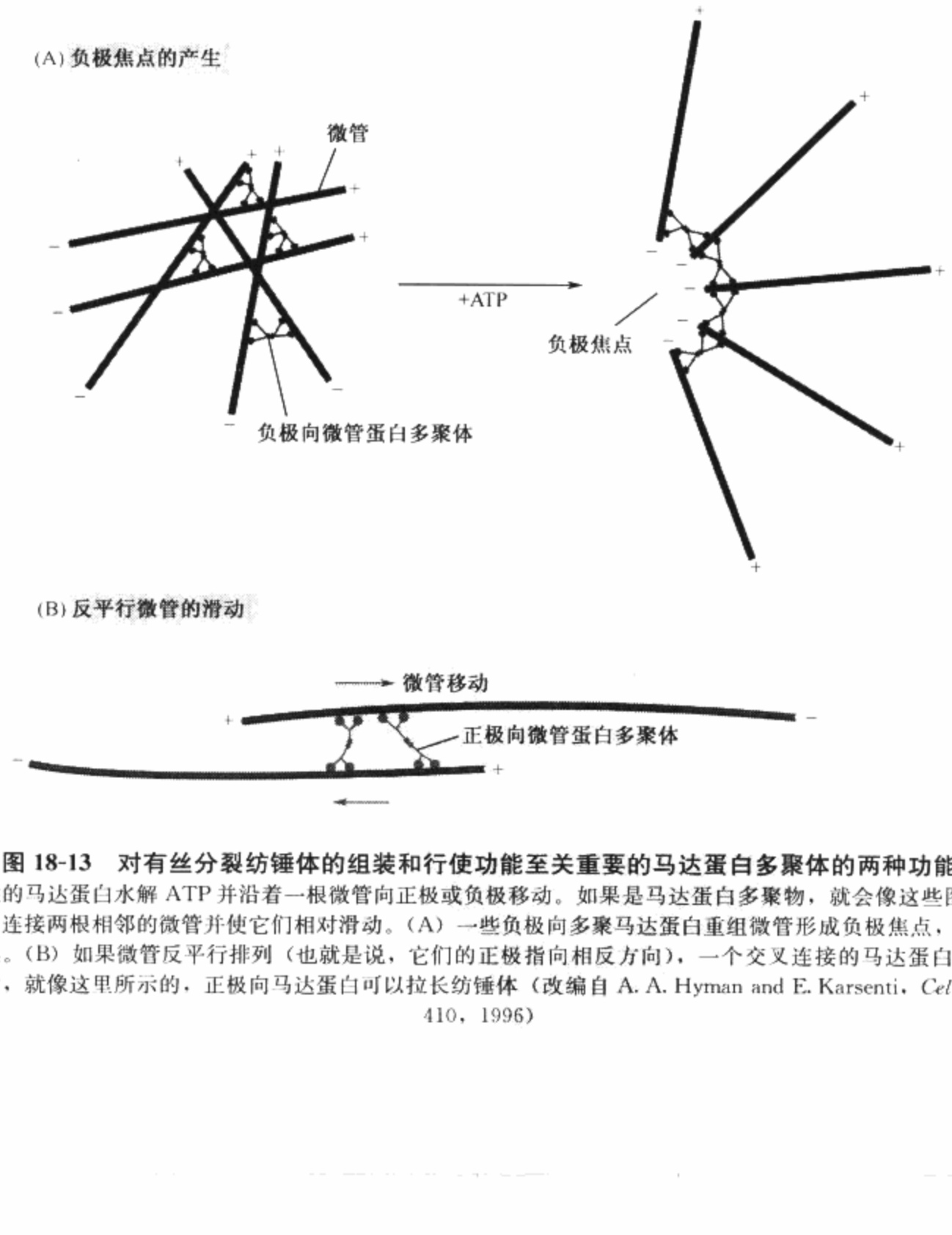


图 18-13　对有丝分裂纺锤体的组装和行使功能至关重要的马达蛋白多聚体的两种功能

微管依赖性的马达蛋白水解 ATP 并沿着一根微管向正极或负极移动。如果是马达蛋白多聚物，就会像这些图例所示的，它可以交叉连接两根相邻的微管并使它们相对滑动。（A）一些负极向多聚马达蛋白重组微管形成负极焦点，在那里，马达蛋白聚集。（B）如果微管反平行排列（也就是说，它们的正极指向相反方向），一个交叉连接的马达蛋白就可以使微管相对滑动，就像这里所示的，正极向马达蛋白可以拉长纺锤体（改编自 A. A. Hyman and E. Karsenti, *Cell* 84：406～410，1996）

在动物细胞的有丝分裂前期，从一个中心体生长出的微管与另一中心体的微管交织在一起。因为微管的正极指向远离中心体的方向，所以这两组微管具有相反极性。正极向马达蛋白交叉连接两组微管，并帮助拉开中心体以开始形成纺锤体的两极（图 18-14）。正极向马达蛋白和负极向马达蛋白的平衡对纺锤体的组装至关重要。尽管作用于重叠微管的正极向马达蛋白倾向于推开纺锤体的两个半部分，但一些负极向的马达蛋白倾向于将它们拉向一起。

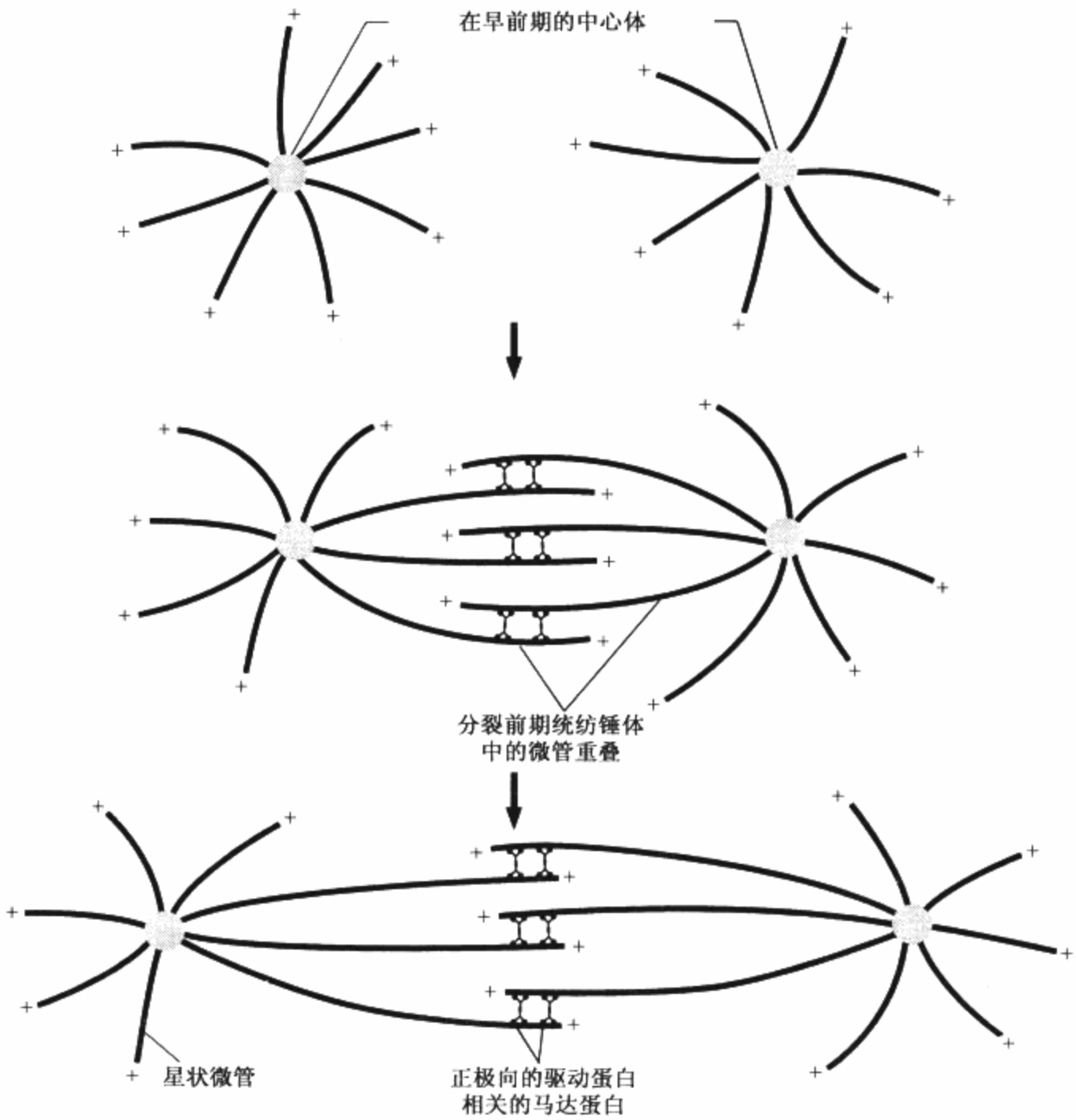


图 18-14　动物细胞有丝分裂前期纺锤体两极的隔离

在这一模型中，正极向马达蛋白作用于相互作用的反平行微管，帮助分离正在形成的纺锤体的两极。新生微管从两个靠近的中心体方向随机地生长出来，同时它们的正极向外延伸。当两根从相对的中心体发出的微管在一个重叠区域相互作用，正极向的、驱动蛋白相关的马达蛋白将微管交叉连接在一起并倾向于沿将中心体推离的方向驱动微管［图 18-13（B）］。负极向的胞质动力马达蛋白与核被膜结合同样被认为通过牵引两组星状体微管蛋白帮助两中心体的分离（未示出）

在脊椎动物细胞中，至少 7 个家族的动力蛋白相关马达蛋白已被定位于有丝分裂纺锤体。在芽殖酵母（*S. cerevisiae*）中，5 种这类马达蛋白已经被显示共同工作于纺锤体。增加一种正极向马达蛋白的水平产生过长的纺锤体，而增加一种负极向马达蛋白产生过短纺锤体（图 18-15）。这样，正负极向的马达蛋白之间的平衡似乎决定了纺锤体的长度。相似地，相反极性马达蛋白的平衡同样存在于人类有丝分裂细胞。至少，人细胞中的一种马达蛋白必须被 M-Cdk 磷酸化才能连接到纺锤体，暗示着 M-Cdk 调控相反马达蛋白的一种可能途径。

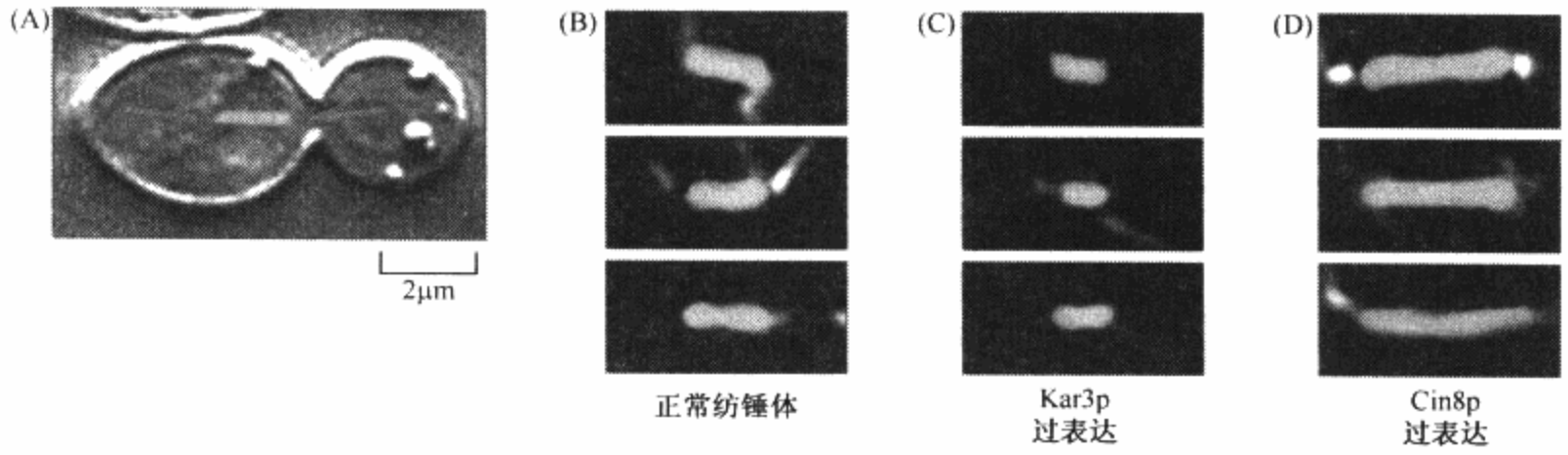


图 18-15　芽殖酵母中相反马达蛋白对纺锤体长度的影响

（A）一张有丝分裂期酵母细胞的微分干涉相差显微照片。纺锤体用绿色突出，纺锤体两极的位置用红色箭头指出。在酵母的有丝分裂期中核被膜不发生解体，而且纺锤体形成在核内（图 18-41）。在（B）～（D）中，有丝分裂纺锤体已经被荧光抗微管蛋白抗体标记。（B）正常酵母细胞。（C）负极向微管蛋白 Kar3p 过度表达导致形成过短纺锤体。（D）正极向马达蛋白 Cin8p 的过度表达导致形成过长纺锤体。如此说来，似乎是相反马达蛋白之间的平衡决定了这些细胞中纺锤体的长度［（A），经 Kerry Bloom 许可；（B）～（D），摘自 W. Saunders，V. Lengyel，and M. A. *Hoyt*，*Mol. Biol. Cell* 8：1025～1033，1997. © American Society for Cell Biology］

着丝粒把染色体连接到有丝分裂纺锤体上

动物细胞的**前中期**随着核被膜的解体突然开始。解体过程在 M-Cdk 直接磷酸化位于核被膜之下的核纤层（lamina）（图 12-20）时被触发。核被膜的解体使微管得以首次到达浓缩的染色体。现在，一个成熟有丝分裂纺锤体的组装过程可以开始了（见专题 18-1）。

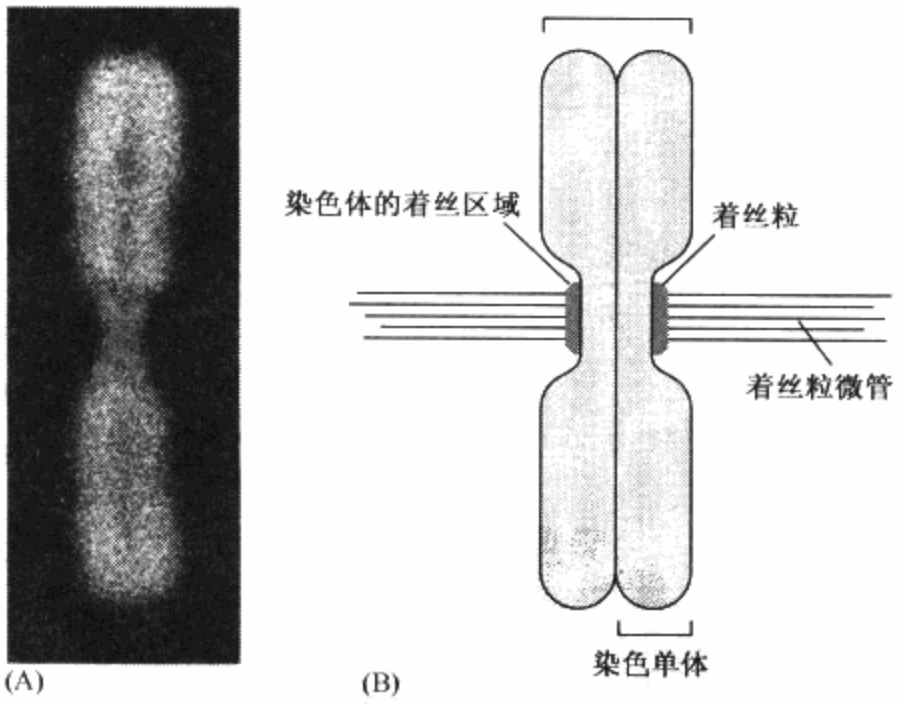
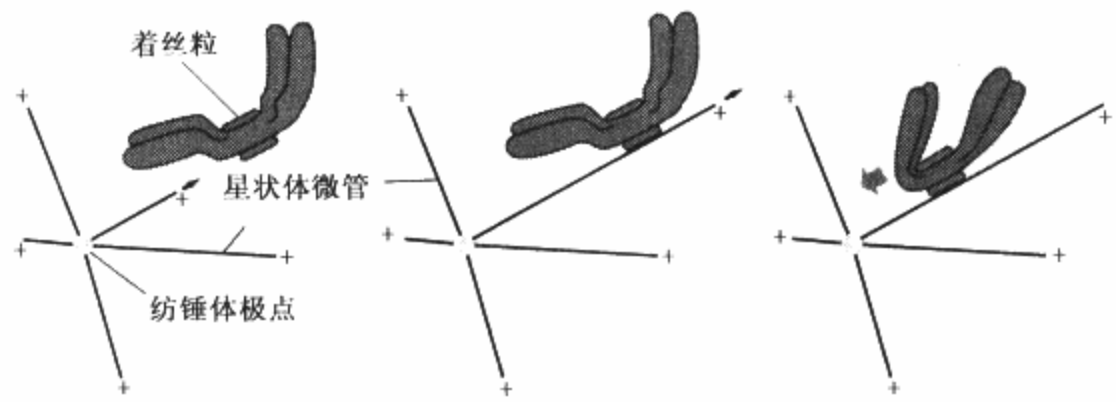


图 18-16　着丝粒微管

（A）用 DNA 结合荧光染料和与特定着丝粒蛋白起反应的人类自身抗体染色的中期染色体荧光显微照片。分别结合着一个染色单体的两个着丝粒被染为红色。（B）中期染色体的简图显示它的两个姐妹染色单体与着丝粒微管正极结合。每个着丝粒在着丝点表面形成一个盘。结合在中期着丝粒的微管数目从芽殖酵母中的 1 根到一些哺乳动物中的超过 40 根不等［（A）经 B. R. Brinkley 许可］

染色体与纺锤体的结合是一个主动的过程。当用视频显微照相观察，这一过程似乎包含一个“寻找并俘获”的机制，从两个正在迅速分离的中心体散发出来的微管朝向染色体生长。连接到染色体上的微管会变得稳定，这样它们不会再经历灾难。它们的生长末端连接**着丝粒**——一种在前期晚期装配在浓缩 DNA 中央部位的复杂蛋白质机器（在第 4 章讨论）。与着丝粒的末端连接是通过微管的正极，此时称为着丝粒微管（图 18-16）。

在可以清楚见到最初的俘获事件的蝾螈肺细胞中，可以看到着丝粒先是连接到微管的一侧，然后迅速沿着微管向一个中心体滑动。与染色体的侧部连接迅速转变为末端连接。同时，从纺锤体相反一极生长的微管从染色体的另一侧连接到着丝粒，形成一种两极附着（bipolar attachment）（图 18-17）。之后，有丝分裂的一个十分令人迷惑的步骤开始了。首先，染色体被前后拖拽，最终选择停留在与纺锤体两极等距的位置上，这一位置称为**中期板（metaphase plate）**（图 18-18）。在脊椎动物细胞中，染色体随后在中期板温和震荡，等候隔离的信号。这一信号在最后的染色体进行双极附着之后，一个可预测的时刻产生（在第 17 章讨论）。



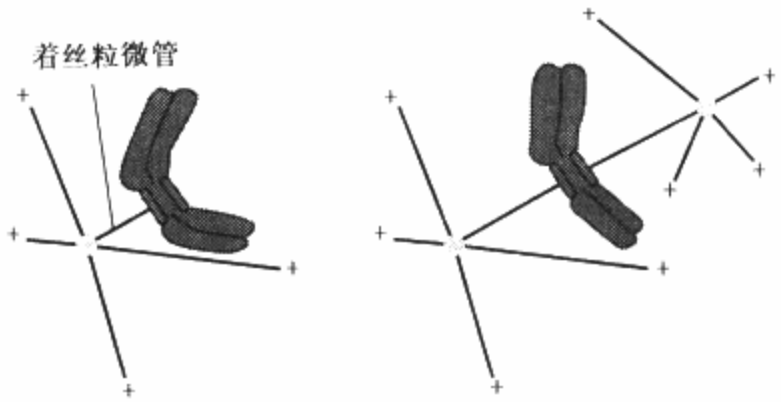


图 18-17　着丝粒微管的俘获

（A）中的红色箭头表示微管生长的方向。（C）中灰色箭头表示染色体滑动的方向

正如我们后面要讨论的，着丝粒在染色体在纺锤体上的移动中扮演着重要角色。它们具有一个在电镜下为盘状的组织（图 18-19），并且它们与正负极向的微管马达蛋白都结合。但微管的正极如何附着到着丝粒上仍然是个谜，特别是因为这些末端一直依照有丝分裂的步骤在不断地聚集或者解聚。

微管在中期纺锤体中高度活跃

中期纺锤体是一个复杂而美丽的集合体，处在动力学的动态平衡之中，并且紧张地准备着将开始于后期的活动。除了着丝粒微管之外的所有纺锤体微管都处在动力学不稳定状态，

它们的正极不断地在缓慢生长和迅速缩短之间随机变换。另外，着丝粒和重叠微管会展示一种被称为极向融解（poleward flux）的行为，随着在正极微管蛋白亚基的净增加，作为平衡，在纺锤体两极附近负极的亚基净减少。

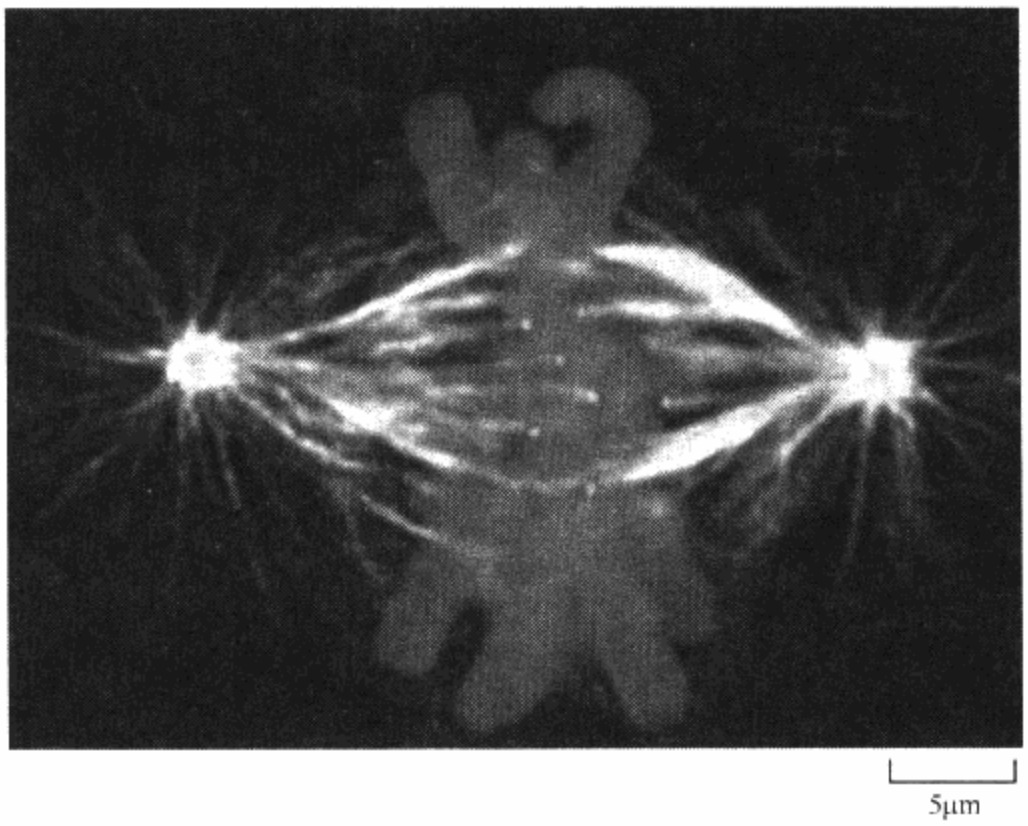


图 18-18　在纺锤体中期板上的染色体

在这张荧光显微照片中，着丝粒被标记为红色，微管为绿色，染色体为蓝色（摘自 A. Desai，*Curr. Biol.* 10：R508，2000. © Elsevier）

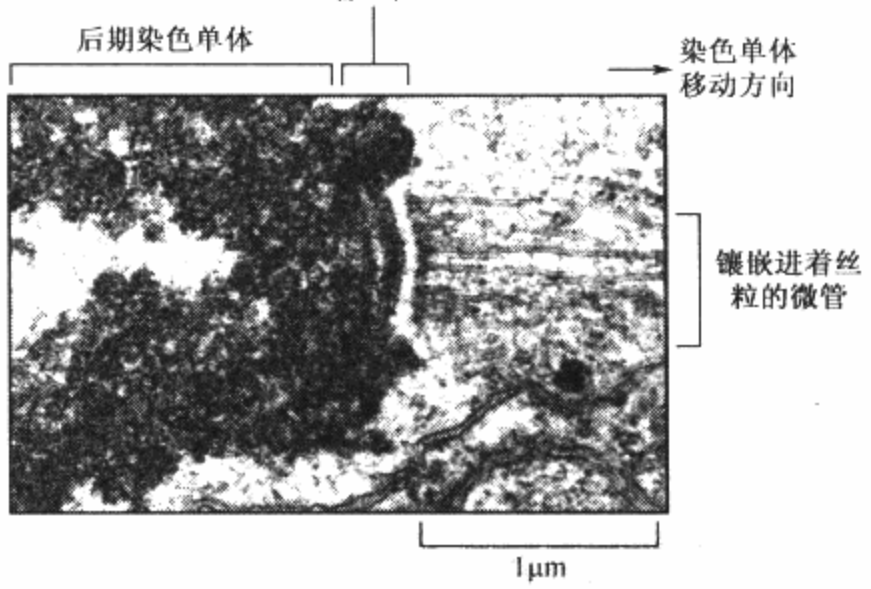


图 18-19　着丝粒

一个着丝粒连接着微管的后期染色单体电镜照片。多数着丝粒具有三层结构，这里出示的（来自一种绿藻）具有带有额外层次的不寻常的复杂结构（摘自 J. D. Pickett-Heaps and L. C. Fowke，*Aust. J. Biol. Sci.* 23：71～92，1970. Reproduced by permission of CSIRO）

中期纺锤体的着丝粒和重叠微管的极向流动量通过将已与可被光激发且被“笼罩住”的荧光素共价偶联的微管蛋白插入微管之中来进行研究的。当这种纺锤体被激光中的一束紫外光标记，标记点会连续向纺锤体两极移动（图18-20）。荧光标记会随时间变暗，说明很多重

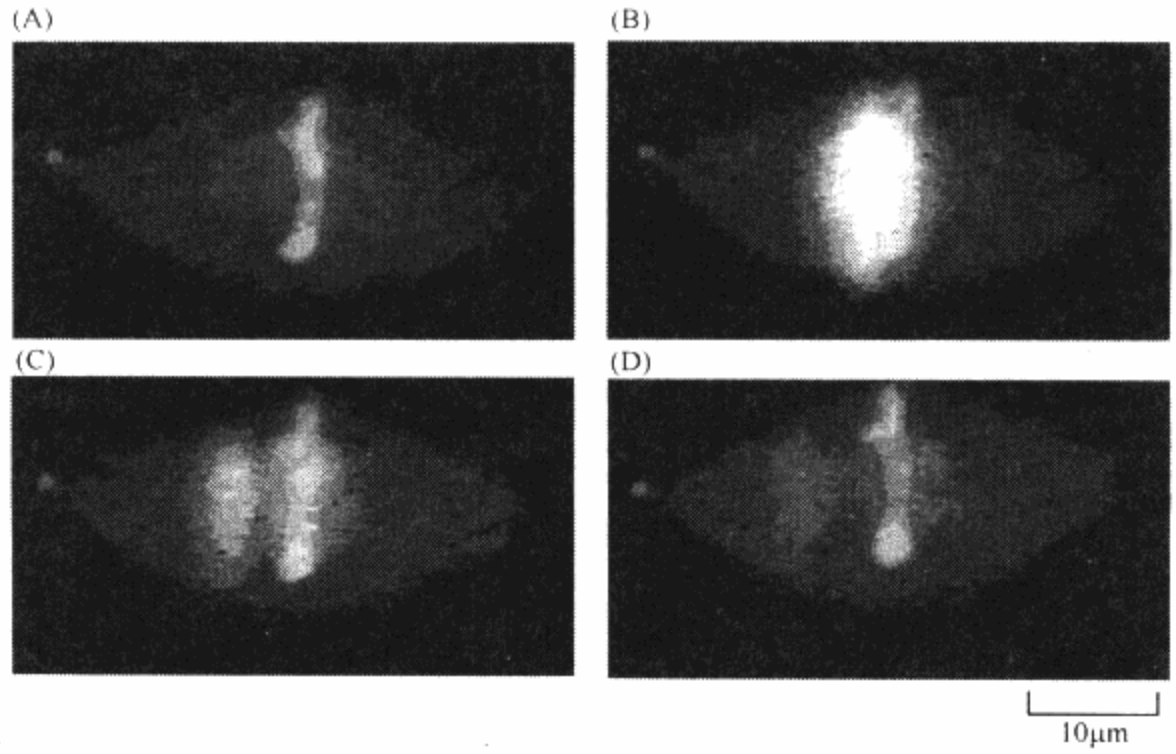


图 18-20　用荧光的光激发研究的中期纺锤体微管动力学行为

将爪蟾精子加入爪蟾卵细胞提取液中，使细胞外形成中期纺锤体（图 17-9），并与三种荧光标记结合：用荧光罗丹明标记的微管蛋白（红色）来标记所有微管；用蓝色 DNA 结合染料标记染色体；用笼锁荧光素标记的微管蛋白，它同样可以结合到所有微管，但不可见，因为需要用紫外光激发。（A）染色体和微管在纺锤体中的分配。（B）用一束紫外光使荧光素标记的微管蛋白局部解锁。主要针对中期板的左侧。经过之后的数分钟［（C）中为 1.5min 之后，（D）中为 2.5min 之后］，可以观察到被解锁的荧光素微管蛋白信号向左侧纺锤体极点移动，说明微管蛋白正在持续的向极移动，尽管纺锤体（罗丹明-微管蛋白的红色荧光使之可见）仍然保持大体上不发生改变。笼锁荧光素信号也在剧烈降低，表明单个微管正在持续解聚并被替换（摘自 K. E. Sawin and T. J. Mitchison, *J. Cell Biol.* 112：941～954，1991. © The Rockefeller University Press）

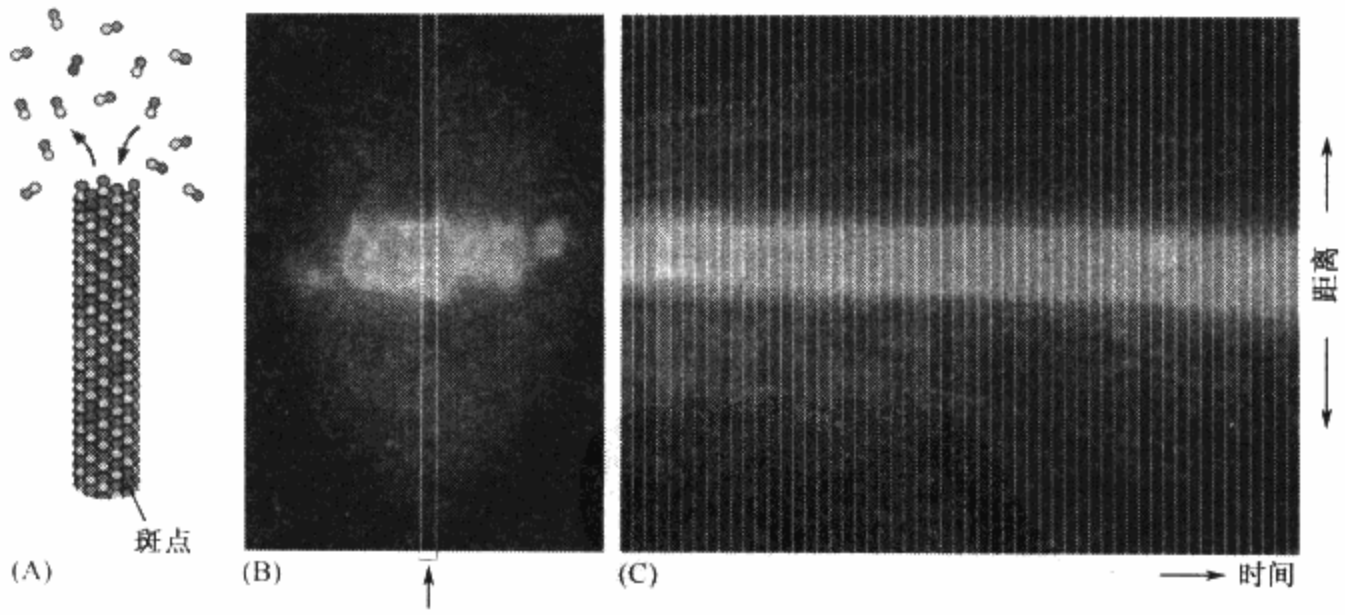


图 18-21　通过荧光斑点显微法使单个微管的动力学行为可见

（A）方法的原理。极少量的荧光微管蛋白被注入活细胞，使得很少比例的荧光微管蛋白参与单个微管的组成。这样的微管在用荧光显微术观察时具有呈现斑点状图像。（B）活蝾螈肺细胞有丝分裂纺锤体荧光显微照片。染色体被染成绿色，微管蛋白斑点为红色。（C）单个斑点的移动可以用延时显微视频方便地跟踪。（B）中细长的矩形区域（箭头）的图像在连续的一系列时刻拍摄，并且被并排连接在一起组成这一区域随时间变化的蒙太奇图像。可以看到单个斑点以大约 0.75μm/min 的速度向极移动（表现出极向融解）（摘自 T. J. Mitchison and E. D. Salmon, *Nature Cell Biol.* 3：E17～21，2001）

叠和着丝粒微管完全解聚并被置换。单根的所有种类纺锤体微管（形状、着丝粒、重叠）都能够利用向活细胞注射微量荧光微管蛋白的巧妙方法研究（图 18-21）。在这些研究中，极向融解能够在着丝粒和重叠微管中看到，但在星状体微管中不能。极向融解不在酵母这样的简单纺锤体中发生，它的功能至今不明，虽然它可能为有丝分裂后期的染色体移动提供帮助。

脊椎动物细胞有丝分裂中期的一个显著表现是染色体在中期板上持续地摇摆运动。这些运动目前已经利用蝾螈肺细胞的视频显微影像进行研究，借此已发现这些运动介于两种状态之间——向极状态（poleward，P）（一种负极向牵引运动）和离极运动（away-from-the-pole，AP）（一种正极向运动）。着丝粒被认为将染色体向两极牵引，同时星状发射力（astral ejection force）被认为将染色体推离两极，朝向纺锤体赤道［图 18-22（A）］。定位于染色体臂上的正极向马达蛋白被认为与星状体染色体互相作用以产生发射力［图 18-22（B）］。有趣的是，没有中心体的纺锤体，包括那些高等植物中的和一些减数分裂纺锤体，并不表现出这些摇摆，这一点可能反映了星状体微管的缺失以及因此缺失的星状发射力。

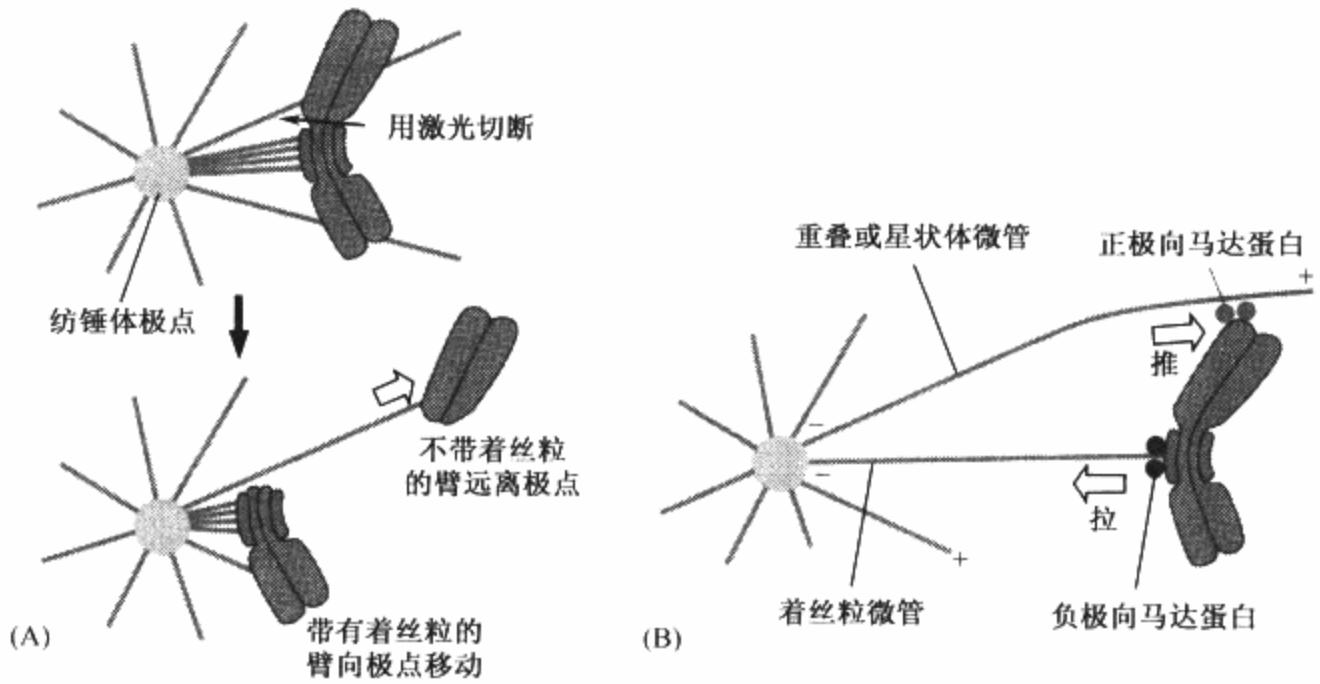


图 18-22　相反的力如何驱动染色体到达中期板

（A）证明将染色体从纺锤体极点推开的星状发射力存在的证据。在这个实验中，一个用激光切成两半的前中期的染色体连接着纺锤体的一个极点。脱离了着丝粒的一半被迅速推离极点，而仍然连接的着丝粒向极移动，反映出排斥力减小。（B）解释两个相反力如何协同作用将染色体移动到中期板的模型。在染色体臂上的正极向马达蛋白被认为与星状体微管相互作用，产生星状发射力，这个力将染色体推向纺锤体赤道。臂上的负极向马达蛋白被认为与着丝粒微管相互作用，将染色体拉向极点

具有功能的双极纺锤体可以在没有中心体的情况下在染色体周围组装

染色体在纺锤体组装过程中不仅是被动的过客。它们通过创造一个有利于作用和稳定的局部环境，在纺锤体形成中扮演积极的角色。染色体的影响可以在纺锤体形成后利用一个纤细的玻璃针将它们重新配置来证明。因为一些中期的细胞中，如果一个单个染色体被拖拽出队列，大量的新生纺锤体微管会在新定位的染色体周围迅速出现，同时在染色体原来位置的纺锤体微管解聚。染色体的这一特性似乎依赖于一种结合在染色质上的鸟嘌呤核苷酸交换因子（guanine-nucleotide exchange factor，GEF），它刺激胞质中一种被称为 *Ran* 的 GTP 酶，

诱导 Ran 结合 GTP，替换掉原有的 GDP。有活性的 Ran-GTP 从胞质中的蛋白质复合体释放微管稳定蛋白（microtubule-stabilizing protein），从而激发染色体周围局部的微管核聚。另外，Ran-GTP 还参与核转移（在第 12 章讨论）。

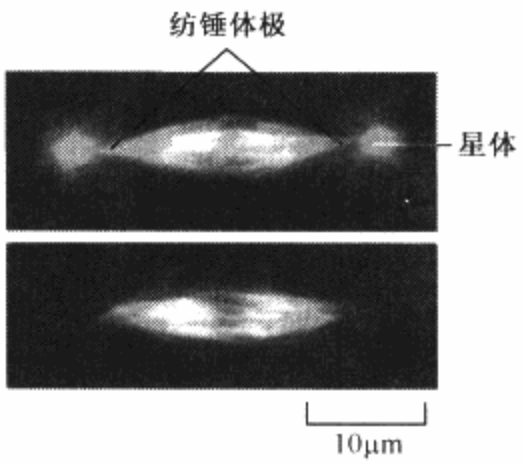


图 18-23　在昆虫蕈蚊（Sciara）的单性生殖胚胎中的无中心体双极微管的组装。微管被染成绿色，染色体则被染成红色。上部的荧光显微照片显示在正常受精的蕈蚊胚胎中形成的一个正常纺锤体。下部的显微照片显示在一个没有受精的胚胎中形成的一个没有中心体的纺锤体。注意，有中心体的纺锤体在其两极各有一个星体，而没有中心体的纺锤体则没有星体。两种纺锤体都能使复制的染色体分离。（摘自 B. de Saint Phalle and W. Sullivan, *J. Cell Biol*., 141: 1383~1391, 1993. © The Rockefeller University Press.）

在没有中心体的细胞中，染色体指导有功能的双极纺锤体的组装。纺锤体就是这样在高等植物细胞和很多减数分裂细胞中形成的。这也就是它们在特定的从未受精卵被诱导发育成的昆虫胚胎中组装的方式（如单性生殖）；因为精子通常在给卵子受精时提供中心体（在第 20 章讨论），在这些单性生殖的胚胎中，有丝分裂纺锤体是在没有中心体的情况下发育的（图 18-23）。引人注目的是，在人工系统中，纺锤体能够在既无中心体也无着丝点的情况下自组装。当包被着缺乏着丝点序列的 DNA 液珠（因此缺乏着丝粒复合体）被加入没有中心体的爪蟾卵提取液时，双极纺锤体在液珠周围形成［图 18-24（A）］。

中心体依赖性的纺锤体组装程序与直接由染色体执行的组装有所不同。如在 DNA 包被液珠模型中，微管首先在接近 DNA 表面的地方核聚，然后微管马达蛋白将极性相同的微管分别归入纺锤体，推动微管负极分开，并将它们分别聚焦到纺锤体两极［图 18-24（B）］。

即便是脊椎动物细胞也能够在中心体被一束激光破坏后利用这样一个中心体依赖性途径构建一个有功能的双极纺锤体。尽管生成的无中心体纺锤体可以正常隔离染色体，但它缺乏负责在动物细胞中定位纺锤体的星状体微管；于是，纺锤体经常被错误定位，引起胞质分裂失常。尽管如此，如果中心体存在，通常它会指导纺锤体组装，因为它在核聚微管方面比染色体更为高效。

后期会被延迟，直到所有染色体被定位在中期板

有丝分裂细胞经常花费 M 期的一半在中期，其间染色体排列在中期板上，互相推撞着，等待诱导染色单体分离的信号以开始后期。用秋水仙碱或长春碱之类的破坏微管稳定性的药品（在第 16 章讨论）处理，使细胞停留在有丝分裂期数小时甚至数天。这样的观测导致了**纺锤体附着检查点（spindle-attachment checkpoint）**的鉴定，这一检查点可由药物处理和中断有丝分裂程序激发。这个检查点机制被细胞周期控制系统用来保证细胞在所有染色体已然附着纺锤体两个极点之前不进入后期（在第 17 章讨论）。如果用突变或者细胞注射对应抗体的方法使检查点机制的组分之中的一个蛋白质失活，细胞会过早地进入分裂后期。

纺锤体附着检查点监视染色体向有丝分裂纺锤体的附着。它被认为探测未附着的着丝粒或者没有处在由双极附着引起的紧张状态下的着丝粒。在任何一种情况下，未附着的着丝粒都会释放延迟后期的信号直到它们全部附着到纺锤体上（图 17-27）。破坏微管稳定性的药物可以阻止这样的附着，于是维持了信号并延迟了后期发生。着丝粒的抑制信号角色能够在培养环境下的哺乳动物细胞中被证明，在此，未附着着丝粒的信号可以阻止后期发生；用激光破坏这种着丝粒会导致细胞进入后期。

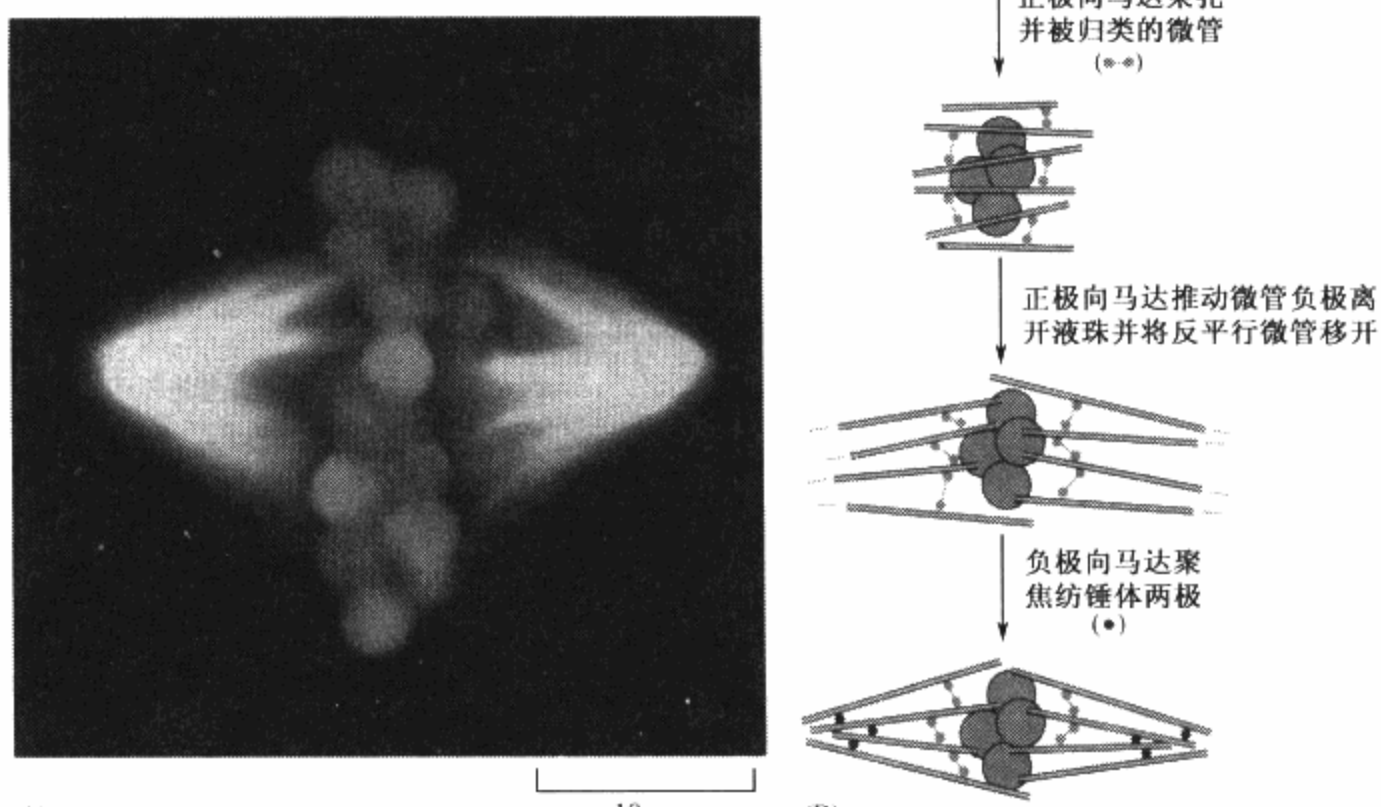


图 18-24　无中心体和着丝粒情况下的双极纺锤体组装

（A）一个在爪蟾卵提取液中包被了细菌 DNA 液珠（红色）周围自组装的纺锤体的荧光显微照片（绿色）。（B）在 DNA 包被液珠指导下的纺锤体组装步骤。微管负极在一部分图中被指出（A，摘自 R. Heald et al.，*Nature* 382：420～425，1996. © Macmillan Magazines Ltd；B，改绘自 C. E. Walczak et al.，*Curr. Biol.* 8：903～913，1998）

姐妹染色单体在后期突然分离

随着将在中期板上的姐妹染色单体固定在一起的黏合蛋白连接的松开，有丝分裂**后期**突然开始。如在第 17 章讨论的，这一中期到后期的转化是被后期促进复合体（anaphase promoting complex，APC）的活性触发的。这一蛋白质水解复合体一旦被激活，将具有至少两个关键功能：①它裂解并灭活 M 期周期蛋白（M-cyclin），由此使 M-Cdk 失活；②它裂解并抑制蛋白（分离抑制蛋白，securin），以此激活称为分离酶（separase）的蛋白酶。分离酶而后裂解粘连蛋白复合体中的一个亚基以拆开姐妹染色单体（图 17-26）。姐妹染色单体立刻分离（现在被称为子染色体）并且向相反两极移动（图 18-25）。

染色体的移动是由两个独立而有重叠的程序执行的。第一步，即**后期 A**（anaphase A），是染色体最初的向极移动。这一过程伴随着附着在染色体上的着丝粒微管的缩短，以及稍次要的，纺锤体两极的纺锤体微管解聚。第二个程序，即**后期 B**（anaphase B），是两极的自我分离，这一过程开始于姐妹染色单体已经分离和子染色体已经离开一段距离之后。后期 A 依赖着丝粒上的马达蛋白。后期 B 依赖拉开两极的两极上的马达蛋白，以及推开两极的中心纺

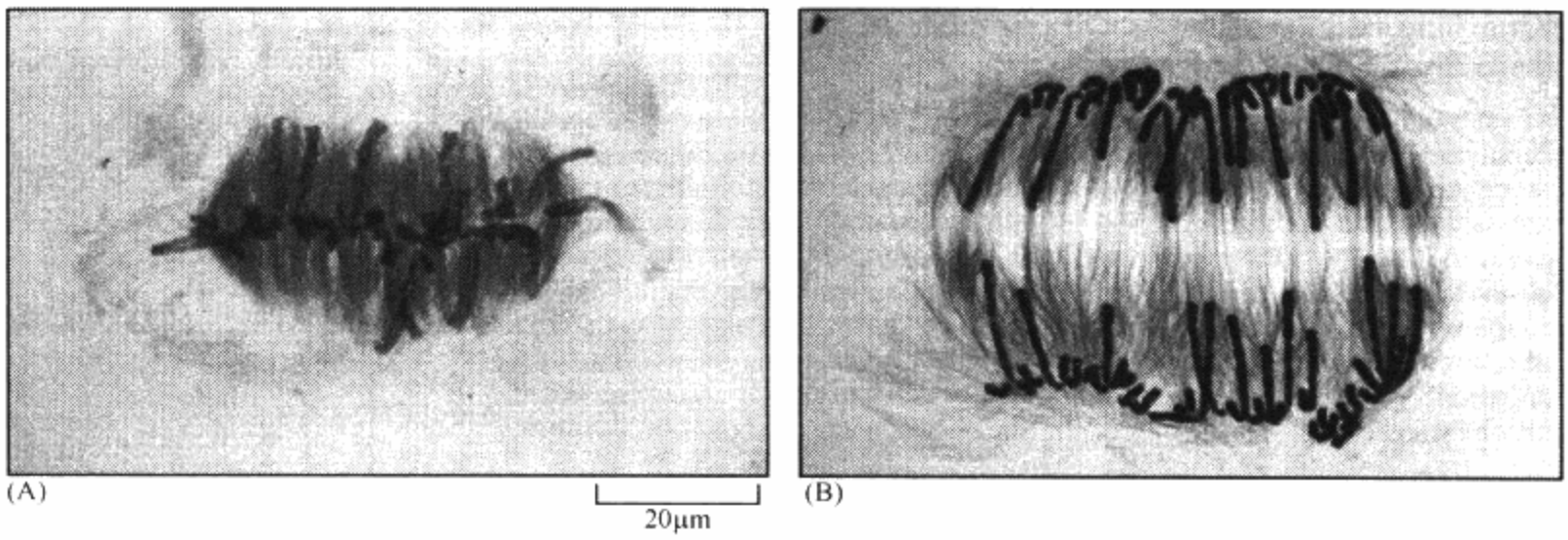


图 18-25　分裂后期染色单体的分离

由分裂中期（A）向后期（B）过渡时，在金标记的微管抗体显色的 *Haemanthus*（lily）胚乳细胞中，姐妹染色单体突然分离并向相反的两极移动

锤体（central spindle，两个正在分开的染色体间的反平行重叠染色体束）上的马达蛋白（图 18-26）。最初，后期 A 和后期 B 通过它们对药物不同的敏感性而区分。这些差别现在被认为反映了介导这两个过程的微管马达蛋白的敏感性的不同。

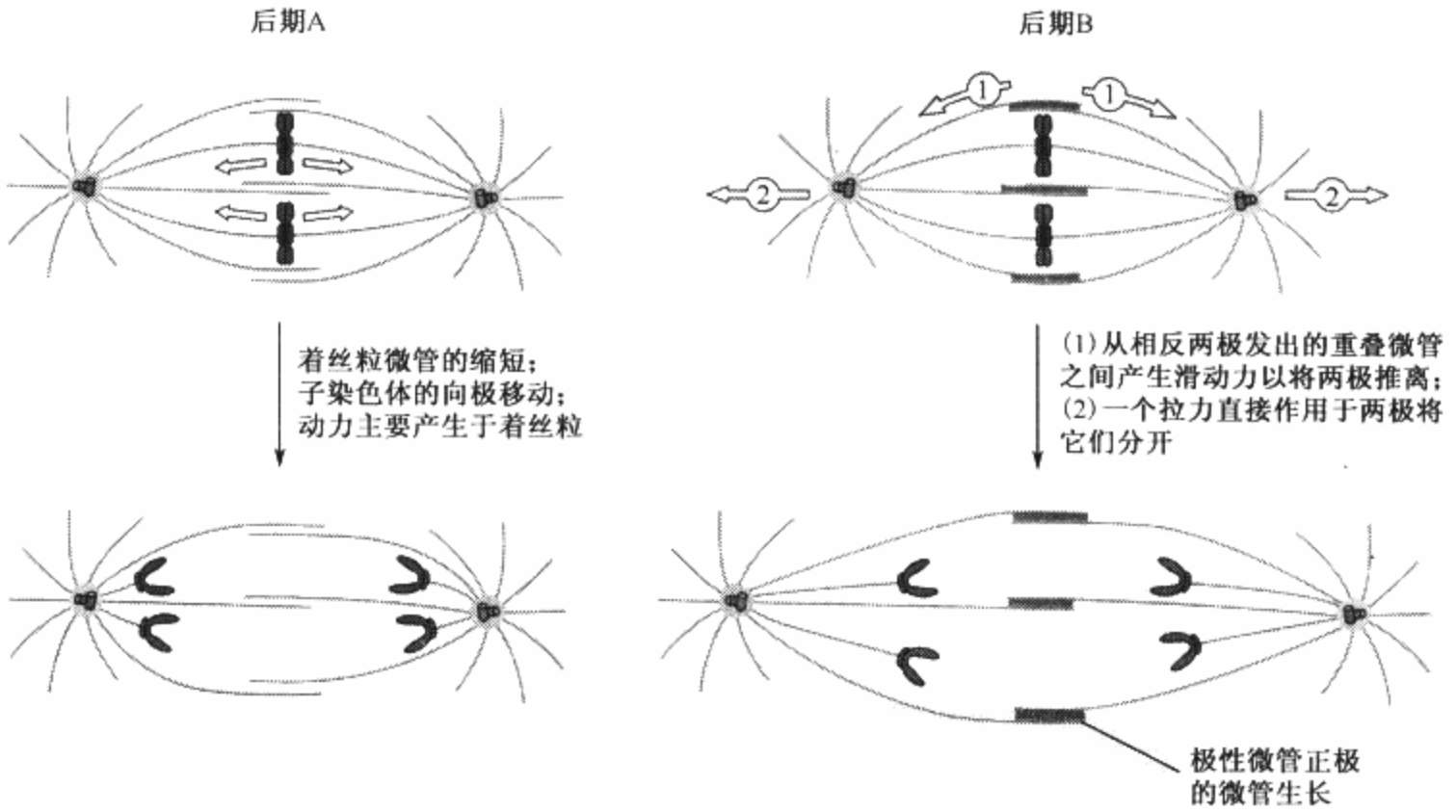


图 18-26　哺乳动物细胞中在后期分离子染色体的主要动力

后期 A 依靠马达蛋白作用于着丝粒，同时伴随着丝粒微管解聚，将子染色体拉向更近的一极。在后期 B，纺锤体两极分开。两个分离的力被认为对后期 B 负责。中心纺锤体重叠微管的延长和彼此滑动将两极推离，并且每个极点的星状体微管产生的外向力将两极向细胞表面拉开

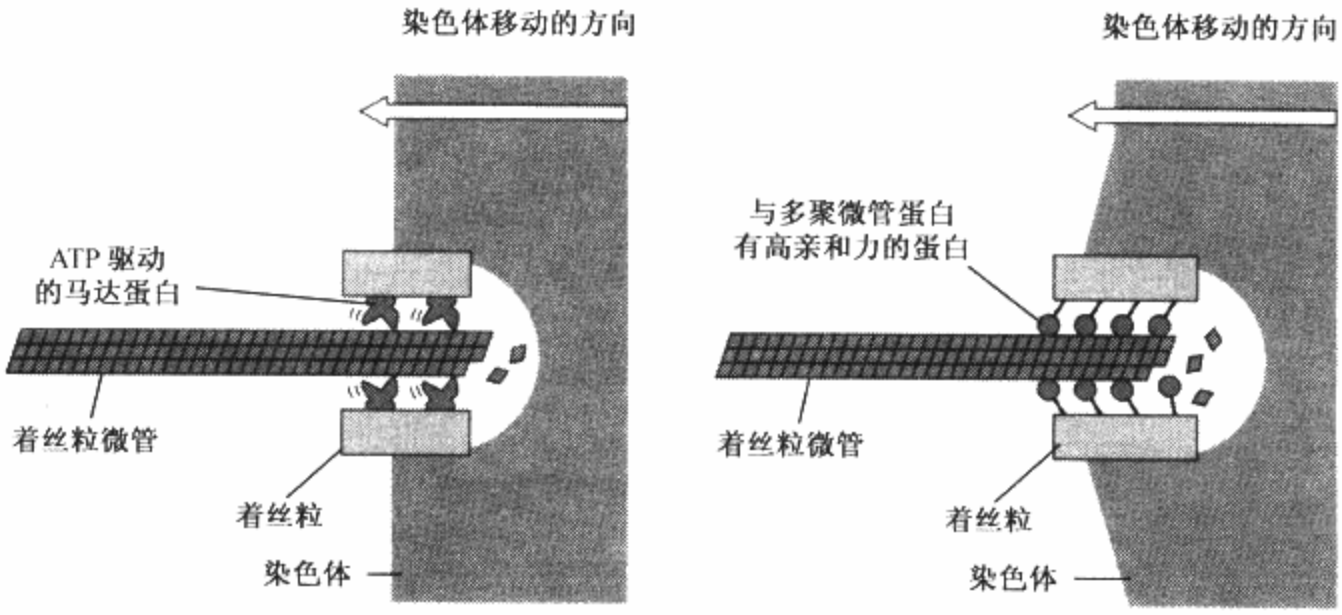
后期 A 的着丝粒微管在两端解聚

当每个子染色体向两极移动时，它的着丝粒微管解聚，这样在末期时它们几乎消失。我们能够通过荧光显微视频观察这一过程，在这一实验中被标记的微管蛋白被注射到细胞中，

这样微管蛋白新近结合的位点就可以被观察到了。在这个实验中可以观察到着丝粒微管的着丝粒端在中期是主要的微管蛋白添加位点。然而在后期 A，着丝粒微管主要从着丝粒端丢失微管蛋白从而缩短。目前还不清楚这一从聚合到解聚的转换在后期是如何发生的，但有可能是因为姐妹染色单体间粘连蛋白被破坏时紧张状态消除而触发。

前面讨论过的极向溶解，随着微管蛋白亚基从重叠微管和着丝粒微管两极持续地丢失（图 18-21），持续贯穿后期。这样，着丝粒微管在后期从两端解聚。

尽管已经清楚着丝粒处的微管马达蛋白和微管解聚在后期 A 对染色体移动起到了作用，但驱动这一移动过程的精确分子机制仍至今不明。另外也尚不清楚着丝粒是如何保持连接一根着丝粒端（正极）正在丢失微管蛋白亚基的微管的。关于在后期 A 染色体如何移动主要有两个观点。一个观点是着丝粒上的马达蛋白利用水解 ATP 的能量拉动染色体沿着丝粒微管移动，并导致微管解聚。另一个是解聚本身驱动了移动过程，不需要利用 ATP（图 18-27）。第二种可能性也许最初看上去不能令人信服，但已表明试管中已纯化的着丝粒在不存在 ATP 的情况下仍然能够结合到解聚中的微管并因此移动。驱动移动过程的能量被储存在微管并在微管解聚的时候被释放；归根结底，这些能量来自发生在一个微管蛋白亚基添加到微管端点后的 GTP 水解（在第 16 章讨论）。着丝粒处的马达蛋白和微管解聚是如何联合驱动染色体移动的，这仍然是有丝分裂中基本的未知事件之一。



(A) ATP 驱动的马达蛋白驱动染色体移动和微管解聚　　(B) 微管解聚驱动染色体移动

图 18-27　关于后期 A 中着丝粒可能如何产生染色体上的向极力的两种不同模型

（A）着丝粒处的马达蛋白利用 ATP 水解的能量沿着拉动染色体沿着它所结合的微管移动。着丝粒微管的解聚作为后果跟随其后。（B）染色体移动由着丝粒微管解聚驱动：当微管蛋白亚基分离，着丝粒被迫向极滑动已保持其与微管壁的结合。由于马达蛋白在后期 A 中是必需的，所以在这一模型中，它们必须主要是为了使微管保持附着在着丝粒上

推力和拉力都对后期 B 有所贡献

在后期 B，纺锤体伸长，拉动两套染色体远离。在后期 A，着丝粒微管的解聚与染色体向两极的移动过程耦合。相比之下，在后期 B，重叠微管真实地延长，帮助推离纺锤体两极。后期 B 由两个不同的力驱动（图 18-26）。第一个依赖于中心纺锤体中在相反极性重叠微管间形成桥联的正极向微管马达蛋白；这些马达向微管正极的位移使微管相对滑动，推动两极远离。结果，中心纺锤体的重叠微管束变细（图 18-28）。这一机制与前面描述的在前期纺锤体

组装时马达蛋白将两极推开的机制相似（图 18-14）。第二种对后期 B 有贡献的力依赖于与星状体微管和细胞皮质相互作用并拉动纺锤体两极分开的负极向马达蛋白（图 18-29）。

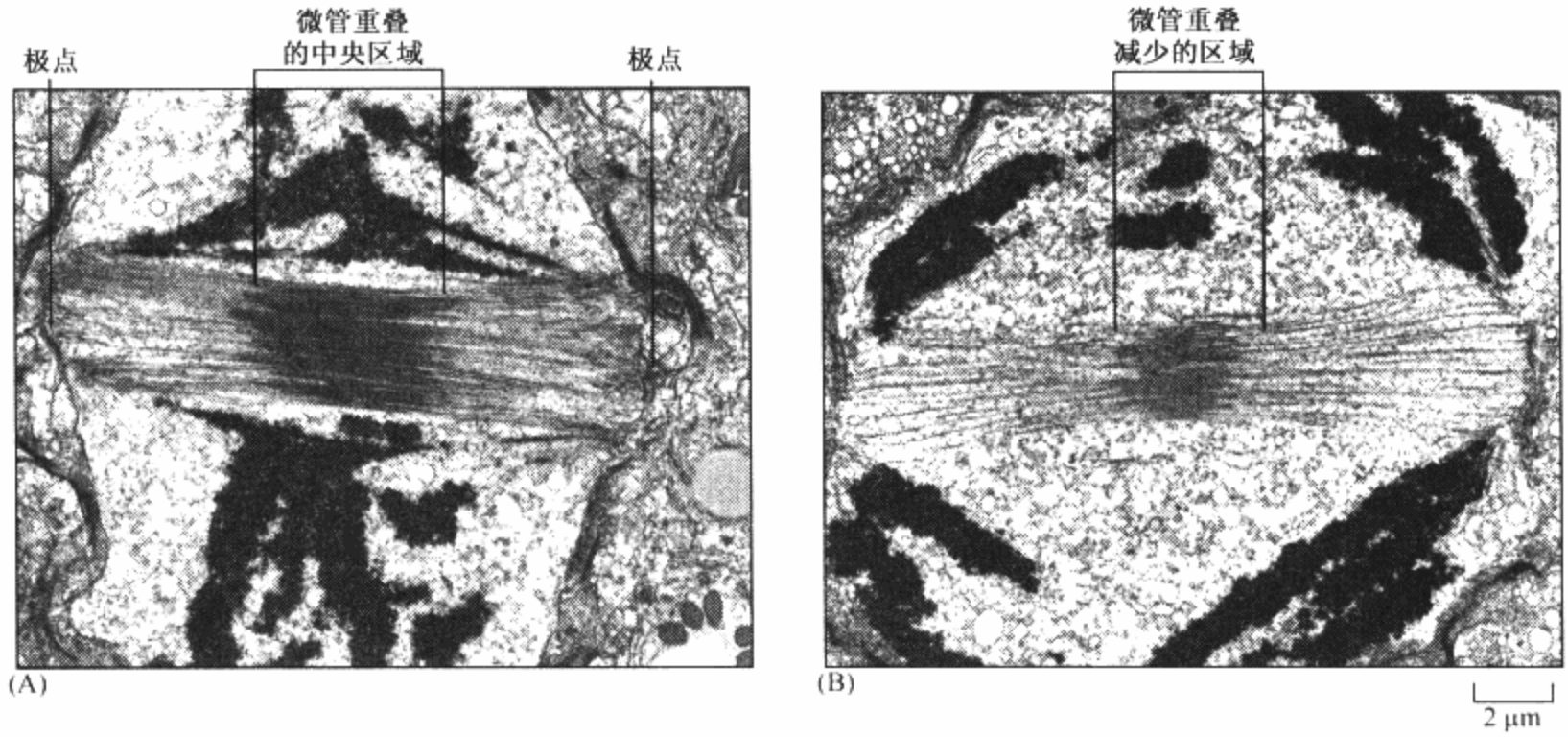


图 18-28　后期重叠微管的滑动

这些电镜照片显示硅藻细胞有丝分裂期中心纺锤体微管重叠程度的减小（经 Jeremy D. Pickett-Heaps 许可）

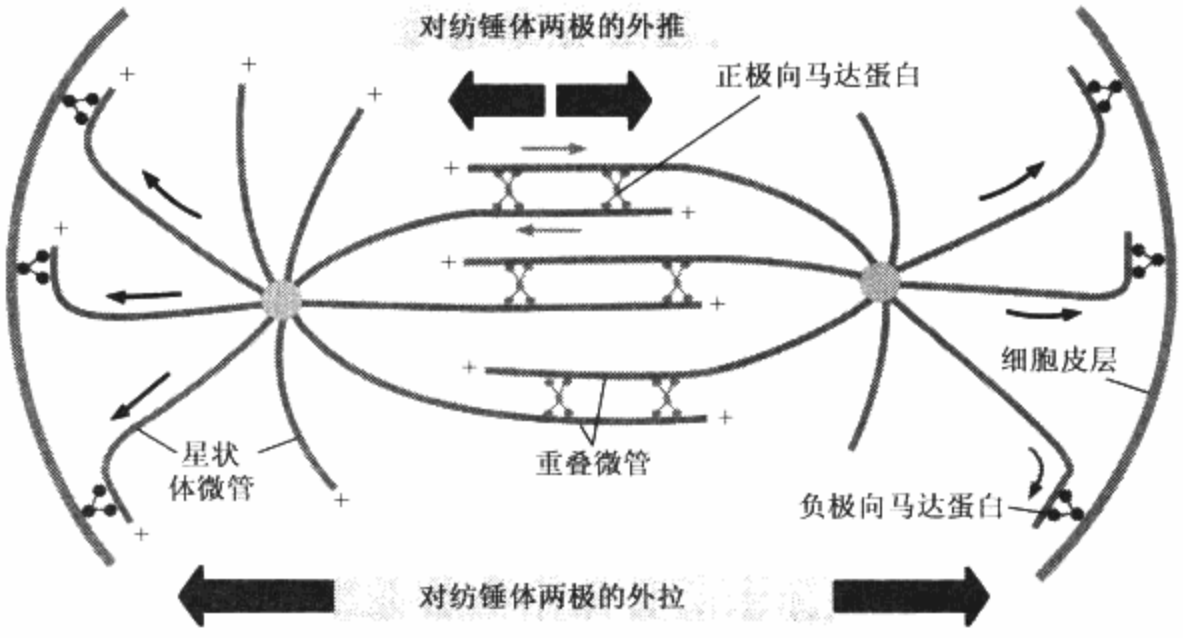


图 18-29　解释马达蛋白可能如何在后期 B 发挥作用的一种模型

正极向马达蛋白交叉连接重叠的反平行重叠微管并使微管相对滑动，以此推离两极。红色箭头指出了微管滑动的方向。负极向马达蛋白连接细胞皮层和那些指向背离纺锤体的星状体微管并拉动两极分离。这些星状体微管在纺锤体两极被拉向皮层时缩短

后期 A 和后期 B 对染色体隔离的相对贡献根据细胞种类非常不同。在哺乳动物细胞，后期 B 开始于后期 A 之后并在纺锤体大约变为中期长度 2 倍时停止；相比之下，酵母和特定的原生动物在有丝分裂后期主要利用后期 B 分离染色体，并且它们的纺锤体在这一过程中延长达 15 倍的中期长度。

在有丝分裂末期，核被膜在单独的染色体周围重新形成

当有丝分裂后期接近尾声，子染色体已经被隔离为相等的两组，分别处于细胞相反的两极，并且已经开始去浓缩。在末期，有丝分裂的最后阶段，核被膜在每组染色体周围重新装配，形成两个子间期核。

从中期到后期的突然转变引起许多曾在前期被磷酸化了的蛋白质的去磷酸化。尽管相关的磷酸酶在整个有丝分裂期间都保持活性，但直到 M-Cdk 被关闭，磷酸酶才能在无对手的情况下工作。紧接着，在末期，核膜碎片与单套染色体表面结合并发生融合以重新形成核被膜。最初，融合的膜碎片部分包围染色体簇；碎片随后互相结合重新形成完整的核被膜（图 12-21）。在这一过程中，核孔复合体被嵌入被膜，已经去磷酸化的核纤层蛋白重新组合形成核纤层。核被膜再次与内质网广泛的膜片成为连续的整体。一旦核被膜重建完成，核孔复合体就泵入核蛋白，核发生扩张，并且浓缩的有丝分裂染色体开始去浓缩变为间期状态，由此使基因转录重新开始。一个新的核已经被制造出来，有丝分裂结束。所有剩下的工作便是细胞完成它一分为二的过程。

小结

有丝分裂开始于前期，这一时期的标志是由 M-Cdk 触发的微管不稳定性的增加。在动物细胞中，一组不寻常的动力微管序列（一个星状体）在每个已复制的中心体周围形成，它们分开引发纺锤体两极的形成。星状体之间的相互作用以及正极向和负极向微管马达蛋白之间的平衡导致双极纺锤体的自组装。在高等植物和缺乏中心体的其他细胞中，一个有功能的双极纺锤体取而代之地在已复制染色体周围形成。前中期的开始伴随着核被膜的解体，这一过程使得浓缩染色体上的着丝粒捕获并稳定住从每个纺锤体极点发出的微管。从相反两极发出的着丝粒微管分别从相反方向牵引已复制染色体，与一种极点发射力一起，制造出一种紧张状态，这一状态帮助把染色体带到纺锤体赤道形成中期板。中期的纺锤体微管具有高度的动力学活性并且经历着持续不断的微管蛋白亚基的极向溶解。后期随着蛋白酶突然裂解将姐妹染色单体固定在一起的粘连蛋白连接宣告开始。这一连接的破坏使得两套染色体得以被分别拉向相反的两极（后期 A 运动）。大约在同时，纺锤体两极发生远离（后期 B 运动）。在末期，随着 M 期开始时被磷酸化的蛋白质被去磷酸化，核被膜在每组分离的染色体表面重新组装。

胞质分裂

细胞周期在**胞质分裂**期间的胞质分离时达到顶点。在一个典型细胞中，胞质分裂伴随着每一次有丝分裂，尽管有些细胞，如果蝇胚胎中的（后面讨论）以及脊椎动物的破骨细胞（在第 22 章讨论），发生有丝分裂时不伴随胞质分裂，并成为多核体。胞质分裂在有丝分裂后期开始并结束于末期，在下一个间期开始时完成。

动物细胞胞质分裂的第一个可见的改变是褶皱，或卵裂沟（cleavage furrow）在细胞表面的突然形成。褶皱迅速变深并围绕细胞延伸，直到把细胞完全分为两个。在动物细胞和很多单细胞真核生物中，完成胞质分裂的结构是收缩环（contractile ring）——一种由肌动蛋白丝、肌球蛋白 II 丝以及很多结构蛋白和调控蛋白组成的动力性集合体。这个环状集合体紧贴着原生质膜之下，并收缩将细胞挤压为两个（图 18-4）。同时，新生膜通过细胞内运输小泡的

融合嵌入临近收缩环的质膜。这些新加上的膜对补偿伴随细胞质分裂的表面积增加是必需的。这样，胞质分裂可以被认为按 4 个步骤（起始、收缩、膜镶嵌、完成）发生。

进行胞质分裂的细胞面临的中心问题是保证这一过程发生在正确的时间和正确的地点。在 M 期，胞质分裂决不能过早发生，否则它将干扰染色体分离的途径。它同样必须发生在正确的地点，以适当地隔离两套染色体，以使每个子细胞得到一套完整染色体。

有丝分裂纺锤体的微管决定了动物细胞的分裂平面

动物细胞的有丝分裂微管不仅隔离子染色体，也指定收缩环的位置，即细胞分裂的平面。收缩环总是在中期板平面形成，与有丝分裂纺锤体长轴垂直，以此确保分裂发生在两套已分离染色体之间。纺锤体指定分裂平面的部分依细胞种类而不同：在一些细胞中是星状体微管；在另一些中是中心纺锤体的重叠反平行微管。

中心纺锤体微管和收缩环定位之间的关系已经利用对海洋无脊椎动物受精卵的操纵进行了研究。在受精之后，这些胚胎经历了一系列快速分裂，而不经历中间的生长时期。这样，原始的卵细胞不断地分裂成越来越小的细胞。在胞质分裂期间，卵裂沟突然出现在细胞表面并迅速变深（图 18-30）。因为细胞质是透明的，所以纺锤体可以用显微镜进行实时观测。如果在有丝分裂后期早期纺锤体被一根纤细的玻璃丝拖拽到一个新的位置，初始的卵裂沟会消失，并且一道新沟会根据纺锤体的新位置发生。

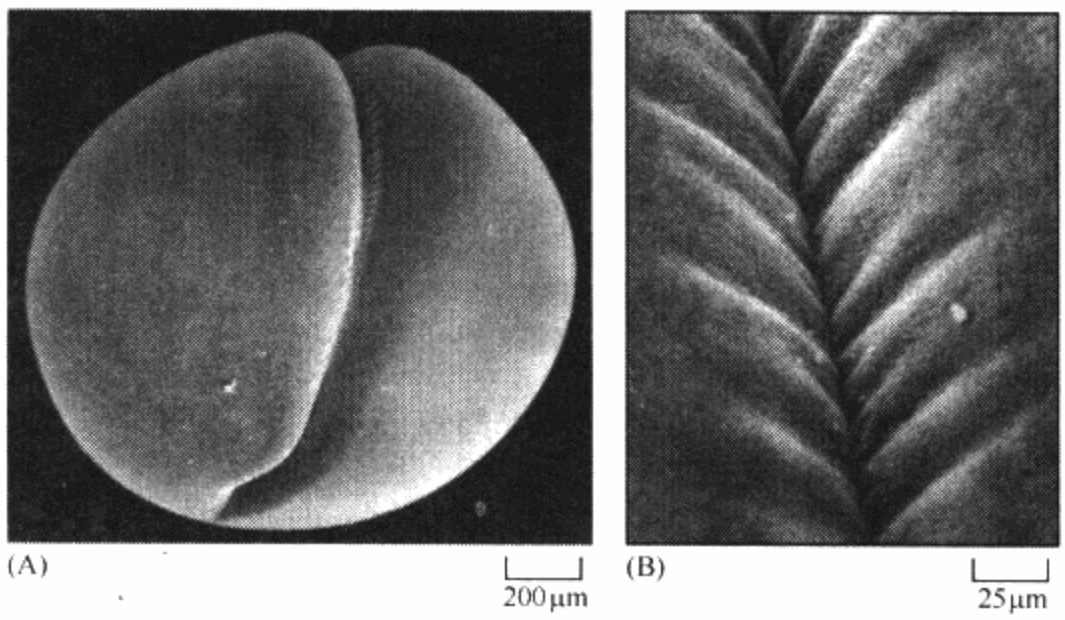


图 18-30　一个受精蛙卵的分裂

在这些扫描电镜照片中，卵裂沟非常明显并可明确界定，同时细胞非常巨大。细胞膜的裂沟是由于其下的收缩环活动引起的。（A）低放大倍数下的分裂蛙卵表面。（B）高放大率下裂沟的表面（摘自 H. W. Beams and R. G. Kessel, *Am. Sci.* 64：279～290，1976）

有丝分裂纺锤体是如何控制分裂平面的呢？在巨大的胚胎细胞中的精巧的实验证明卵裂沟在中心体发出的星状体的正中间形成，甚至当两个中心体没有通过有丝分裂纺锤体互相相连时也是如此（图 18-31）。这样，在这些细胞中，是微管星状体（而并非染色体或纺锤体的其他部分）为细胞皮层确定收缩环应该在哪里装配发出信号。在其他细胞中，是中心纺锤体而非星状体微管负责这一选择过程。在任何一种情况下，推测重叠微管可能为马达蛋白提供轨道以将收缩环调控因子，及可能还有新膜，递送至分裂细胞的恰当区域。但事实上，纺锤体定位卵裂沟的分子机制仍然是个谜。

在一些细胞中，收缩环组装的微管在有丝分裂前根据前一个细胞周期在皮层留下的地标

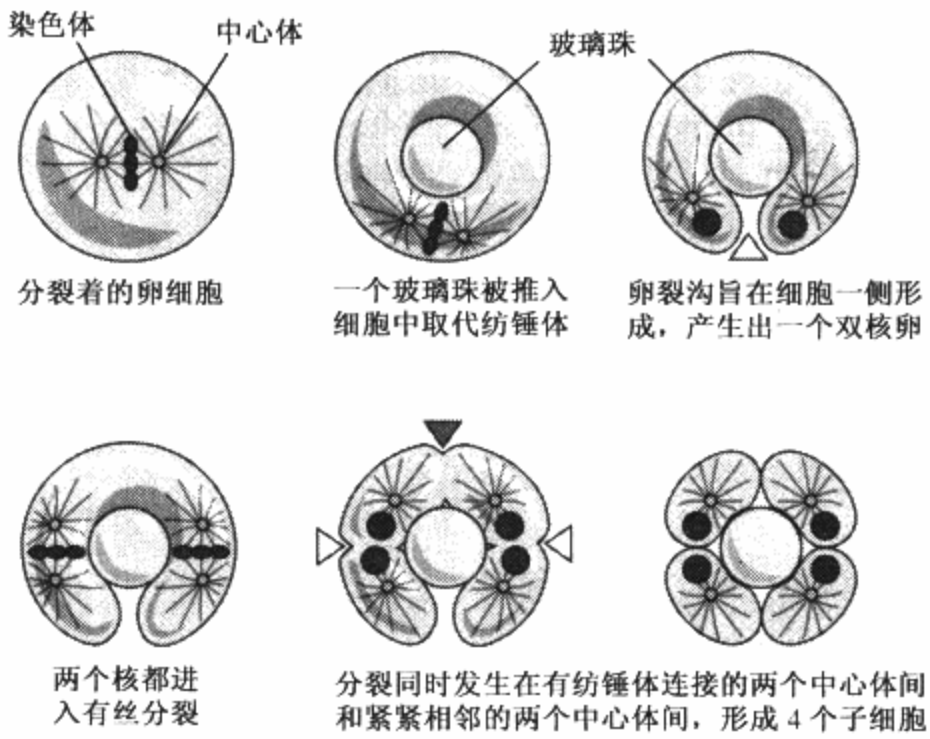


图 18-31　一个证明在巨大的卵细胞中微管星状体位置对后来的分裂平面的影响的实验

如果有丝分裂纺锤体用一个玻璃珠被机械地推到细胞一侧，细胞膜的裂沟将不完整，不能在细胞的另一侧发生。后来的裂痕不仅发生在两个有正常关联的并发纺锤体间（黄色箭头），也发生于两个没有纺锤体连接的临近星状体间——但这两个星状体在这个不正常细胞中享有相同的细胞质（红色箭头）。很明显，在这些细胞中产生卵裂沟的收缩环总是在两个星状体的正中间区域形成，暗示着星状体某种程度上改变细胞皮层的临近区域以引导裂沟在它们之间形成

进行选择。例如，在芽殖酵母中，一种被称为 Septin 的蛋白质环在有丝分裂之前，临近前一次分裂母子细胞分离时在细胞表面留下的芽痕处组装。Septin 蛋白被认为形成一个脚手架，包括肌球蛋白 II 的收缩环其他成分在此上组装。正如我们后面讨论的，在植物细胞中，一道有组织的微管条带和肌动蛋白丝就在有丝分裂之前组装并标记细胞壁聚合的位点从而将细胞一分为二。

一些细胞重新配置它们的纺锤体以对称分裂

多数细胞分裂是对称的。例如，在大多数动物细胞中，收缩环在母细胞的赤道板周围形成，这样产生的两个子细胞就具有了相等的体积并且具有相似的性质。这一对称性缘于有丝分裂纺锤体的位置，纺锤体在多数情况下倾向于将自己置于细胞质中央。中置的过程依赖于星状体微管和在星状体微管上将纺锤体推或拉向中间的马达蛋白。

尽管如此，有很多发育上的例子，细胞不对称的分裂产生两个大小不等，或继承的细胞质组分不同，或二者兼具的细胞。通常，两个子细胞将注定沿着不同途径发育。为了产生不同命运的子细胞，母细胞必须首先隔离一些组分（称为命运决定子，fate determinant）到细胞一侧，然后定位分裂平面，从而使适当的子细胞继承这些组分（图 18-32）。为了对称地定位分裂平面，纺锤体必须按照分裂细胞内部可控制的方式运动。看起来这样的纺锤体运动似乎由细胞皮层局部区域的改变指导，而且马达蛋白局限于通过星状体微管拉动纺锤体的一极，将它拉到合适的区域（图 18-33）。这种不对称分裂必需的一些蛋白质已经通过对秀丽新小杆线虫（*C. elegans*）和果蝇（*Drosophila*）（在第 21 章讨论）的基因分析而分离，并且这些中的一些似乎在脊椎动物中也扮演相似角色。

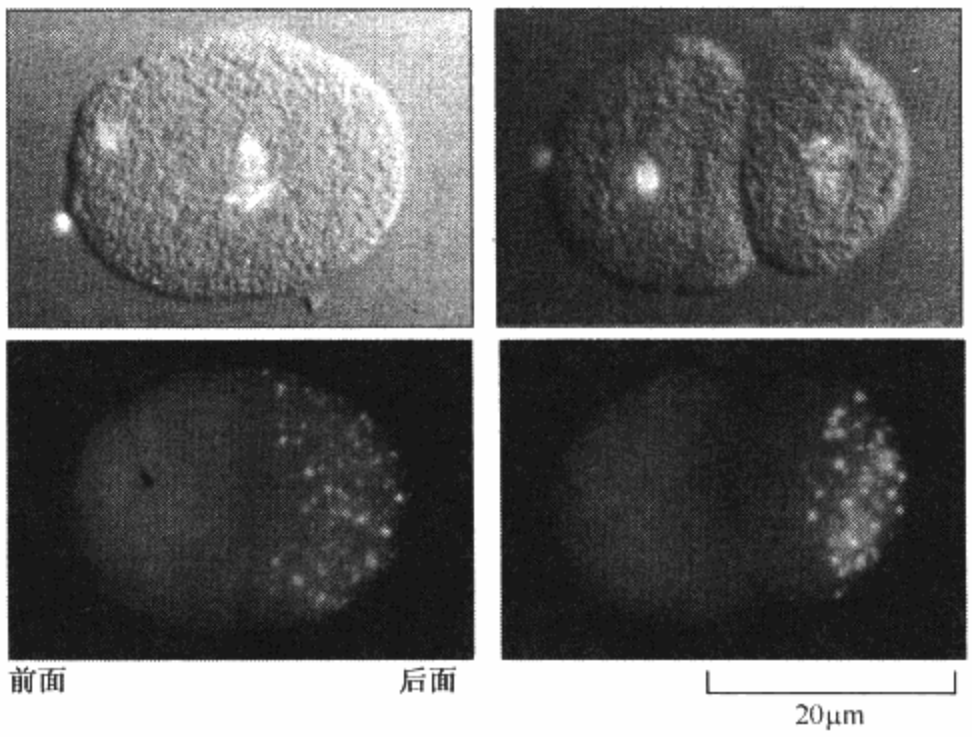


图 18-32　不对称细胞分裂将细胞质组分隔离到一个子细胞

这些光学显微镜照片显示了在线虫 *C. elegan* 受精卵第一次分裂时的特定细胞质组分向一个单独子细胞的受控不对称隔离。上面的细胞已经用蓝色的 DNA 结合荧光染料染色以显示细胞核（以及极体，见图 20-22）；它们被用微分干涉对比相差显微术和荧光显微术两种技术观察。这些功能未知的小颗粒在未受精卵的细胞质中随机分布（没有给出图示）但被隔离在受精卵的后部，如在左图所示的。卵裂平面被导向以确保只有后面的子细胞在卵裂时得到 P 颗粒，如右图所示。相同的隔离过程在后来的几次细胞分裂中得到重复，这样 P 颗粒最后只存在于受精卵细胞（经 Susan Strome 许可）

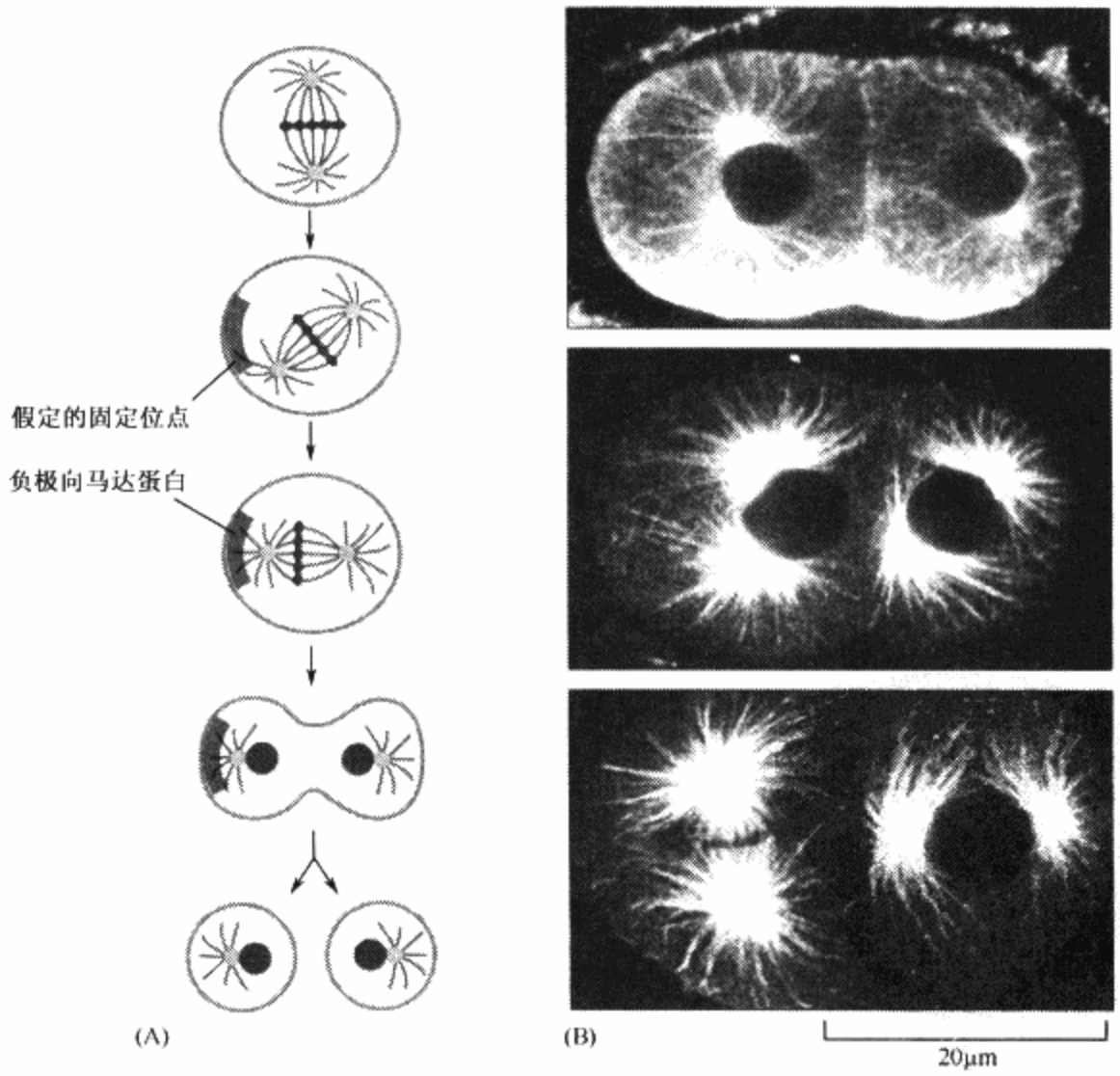


图 18-33　纺锤体旋转

（A）有丝分裂纺锤体受控旋转的可能机制。红色杠表示细胞皮层的一个特殊区域，纺锤体的一极被星状体微管拉向这一区域。（B）荧光显微照片显示 *C. elegan* 二细胞阶段胚胎中纺锤体按照精确程序的旋转，这一旋转过程为形成特殊形式的四细胞体做好准备。微管已用微管蛋白抗体染色。右面细胞中的纺锤体顺时针旋转了大约 90°，如图（A）所示［（B）经 Tony Hyman and John White 许可］

不对称分裂在植物细胞中尤其重要。因为这些细胞在分裂后不能移动，所以分裂平面的选择对于控制组织形态至关重要。我们后面将讨论在这些细胞中分裂平面是如何决定的。

收缩环中的肌动蛋白和肌球蛋白 II 产生胞质分裂的动力

当有丝分裂后期星状体微管寿命变长，动力学活性变小以应答 M-Cdk 活力丢失时，**收缩环**开始在原生质膜下组装。尽管如此，很多胞质分裂的准备工作发生在细胞质分离真正开始前更早的有丝分裂期。在间期细胞中，肌动蛋白丝和肌球蛋白丝被组装成皮层网络，并且在一些细胞中，还被组装成巨大的细胞质束，称为压力纤维（stress fiber）（在第 16 章讨论）。当细胞进入有丝分裂期，这些序列解聚；很多肌动蛋白被重新组织，并且肌球蛋白 II 丝被释放。随着姐妹染色单体在后期分离，肌球蛋白 II 开始在迅速组装的收缩环聚集（图 18-34）。

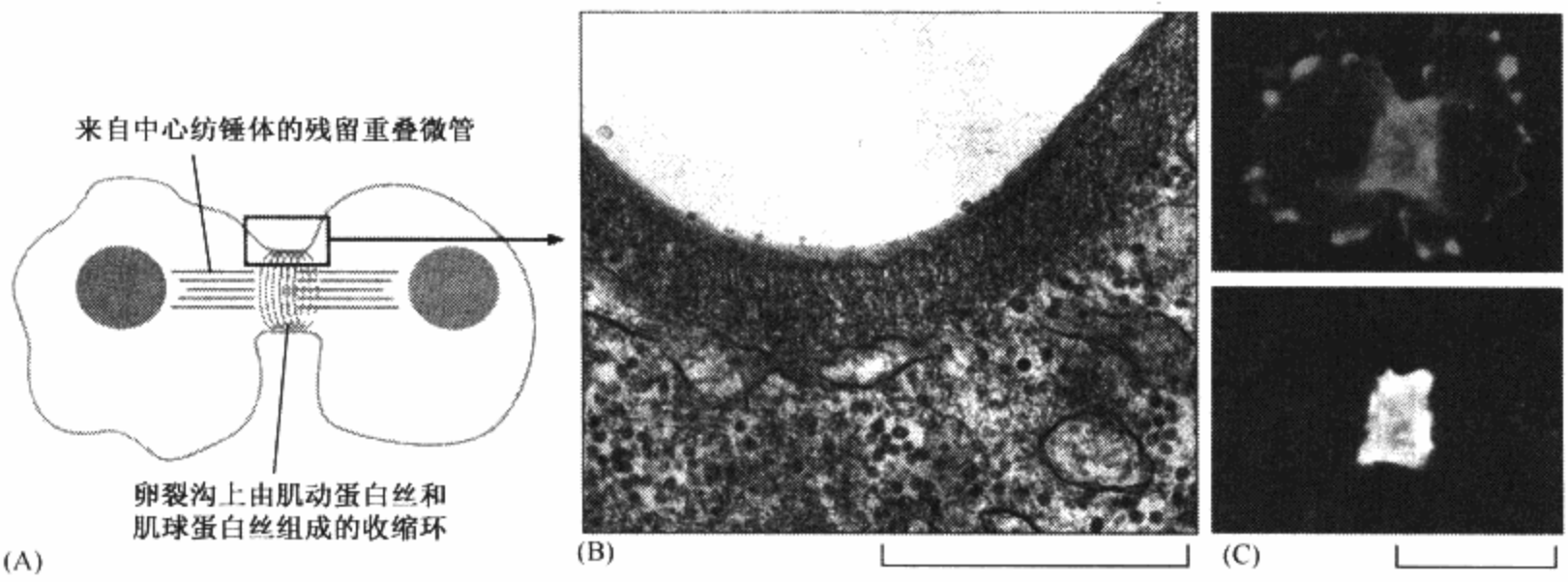


图 18-34　收缩环

（A）分裂细胞卵裂沟的绘图。（B）正在分裂的动物细胞的卵裂沟向内生长的边缘的电镜照片。（C）一个正在分裂的黏土霉菌阿米巴的荧光显微照片，其中肌动蛋白（红）和肌球蛋白 II（绿）被染色。虽然所有可见的肌动蛋白 II 都已经重新分配到收缩环，但只有一部分的肌动蛋白情况如此；剩余的残留在新生子细胞的皮层中［（B）摘自 H. W. Beams and R. G. Kessel，*Am. Sci.* 64：279～290，1976；（C）经 Yoshio Fukui 许可］

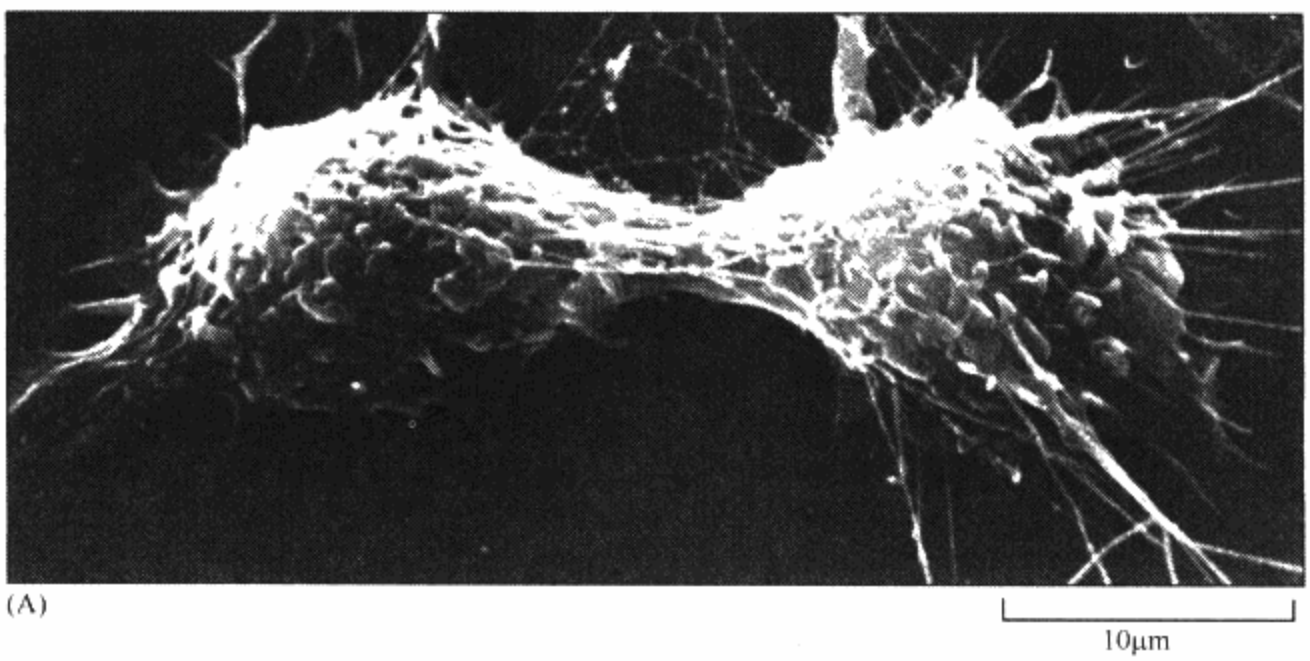
在很多细胞中，胞质分裂需要一个或多个**类 polo 蛋白激酶家族**（polo-like family）的成员。这些激酶调控有丝分裂纺锤体和收缩环的组装，并且因此被认为帮助有丝分裂和胞质分裂相互协调进行，但不能确定它们是如何做这件事的。装配完全的收缩环包含不算肌球蛋白和肌动蛋白 II 的很多蛋白质。尽管如此，是肌动蛋白丝的重叠序列和双极的肌球蛋白 II 丝产生将细胞质一分为二的动力。它们被认为在一种类似平滑肌使用的生化机制的作用下收缩。例如，在这两者中，收缩都开始于 Ca^{2+}-钙调蛋白激活磷酸化肌球蛋白 II 的肌球蛋白轻链激酶。一旦收缩过程被激发，收缩环会产生足以弯曲插入它收缩路径中的纤细玻璃针的力。

收缩环是如何压缩的至今仍然是个谜。这一过程伴随着像骨骼肌中肌动蛋白丝和肌球蛋白 II 丝相对滑动（图 16-71），看起来不是由简单的“钱袋-丝线”（purse-string）机制操纵的。收缩环压缩时保持着交叉部分的同样厚度，暗示它的全部体积和包含的蛋白质丝的数量持续减少。另外，与肌肉不同，收缩环中的肌动蛋白丝具有高度的动力学活性，它们的排列在胞质分裂期间会发生很大改变。

除了在后期早期指定收缩环组装位点，在很多细胞中，微管还在后期和末期持续工作以稳定行进中的卵裂沟。例如，破坏微管稳定性的药物可以引起收缩环中的肌动蛋白丝变得缺

乏组织。另外，如果用一根针将微管剥离细胞皮层，收缩环会解聚并且卵裂沟会退化。尚不清楚微管如何稳定收缩环，尽管已经有证据显示生长的微管可以激活一些小 GTP 酶 Rho 家族的成员，这些蛋白质接下来会激发肌动蛋白多聚（在第 16 章讨论）。这一家族中的一个成员，RhoA，在胞质分裂中是必需的。

收缩环在分裂结束时最终被完全分配，此时，卵裂沟的质膜变窄以形成中间体。中间体作为两子细胞的中间范围持续存在并且包含着中心纺锤体的残余，这些残余现在包含由致密基质紧密包装在一起的两套反平行微管（图 18-35）。值得注意的是，在一些细胞中，在胞质分裂完成之前，来自一个或全部两个子细胞中的中心粒离开它们的子中心粒［图 18-5（C）］并且迁移到中间体，在返回子细胞之前在那里游荡几分钟。只有随后两个子细胞分离才完成胞质分裂。中心粒在中心体中可能做了什么从而触发胞质分裂的最后步骤目前还不知道。在子细胞完全分离后，残余中间体的一些组分经常留在每个细胞的质膜内，在那里它们可能作为皮层上帮助在下一次细胞分裂定向纺锤体的标记。



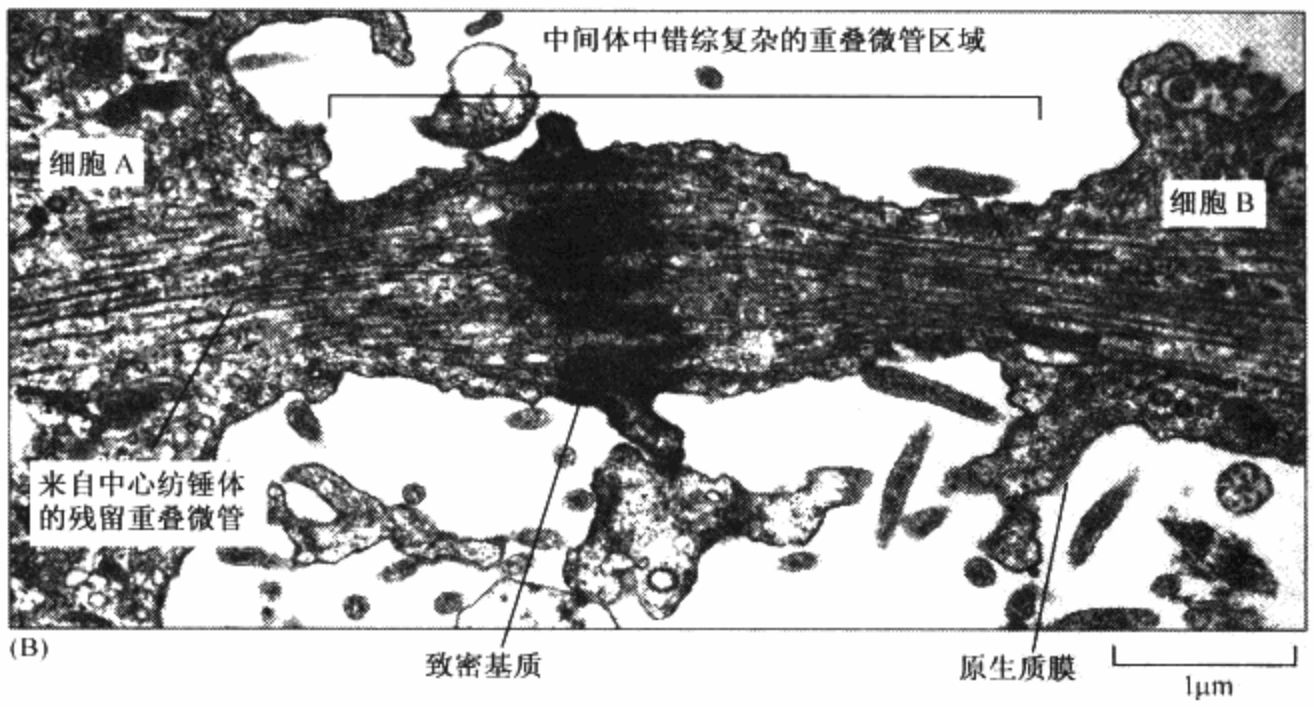


图 18-35　中间体

（A）一个培养环境下的正在分裂的动物细胞的扫描电镜照片；中心体仍然连接着两个子细胞。（B）一张正在分裂的动物细胞的传统电镜照片。分裂已基本完成，但两个子细胞仍然被这一包含着中心纺锤体残余的细胞质绳索连接着，即见图 18-8 的末期晚期面板［（A）经 Guenter Albrecht-Buehler 许可；（B）经 J. M. Mullins 许可］

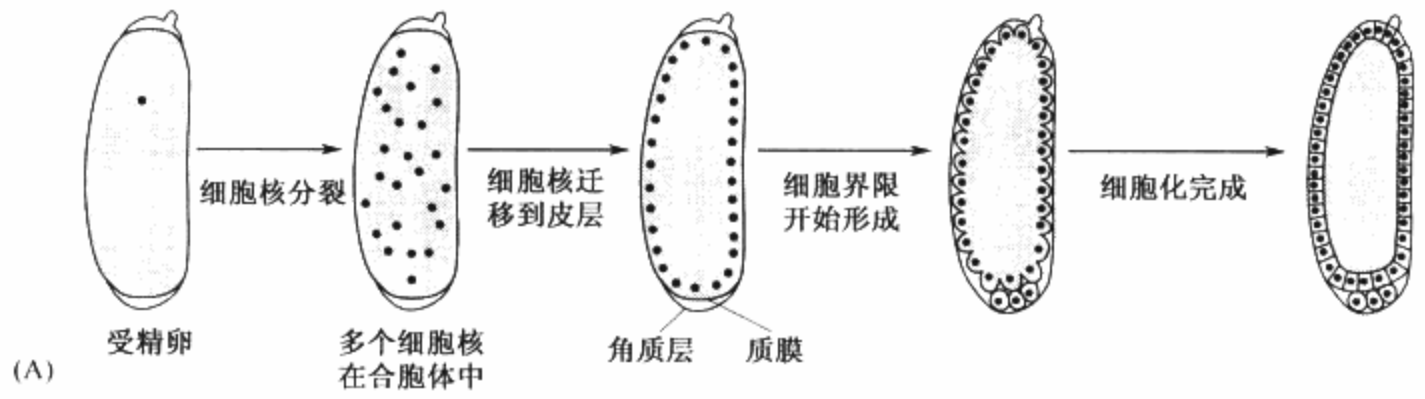
封闭膜器官在胞质分裂时期必须被分配到子细胞

有丝分裂的过程确保每个子细胞得到一整份染色体。此外，当一个真核细胞分裂时，每个子细胞还必须继承所有其他基本的细胞组分，包括封闭膜器官。正如在第 12 章中讨论的，像线粒体和叶绿体这样的细胞器不能由它们各自的组分自发组装；它们只能通过已经存在的细胞器的生长和分裂产生。与此类似，除非已经存在一些部分，否则细胞不能够制造新的内质网（ER）。

那么，当细胞分裂时，不同的封闭膜细胞器是如何隔离的呢？像线粒体和叶绿体这样的细胞器经常大量存在从而确保得以遗传，平均每个周期它们的数量大约增加一倍。间期细胞的内质网是与核膜相连续的，并由细胞骨架组织。当进入 M 期，微管的重新组织使 ER 得以释放，并且会像核被膜一样解体。高尔基体可能也要解体，尽管在一些细胞中似乎是被短暂的分配到了 ER 内，在末期只是重新浮现。一些细胞器碎片与纺锤体微管通过马达蛋白相连，以此随着纺锤体在后期延长搭便车到达子细胞。

有丝分裂可以不伴随胞质分裂发生

尽管通常核分裂之后会发生胞质分裂，但是有例外。一些细胞会经历多轮的核分裂而其间不进行胞质分裂。例如，在果蝇的早期胚胎，前 13 次核分裂就不伴随胞质分裂，结果在近表面一层的位置形成一个包含 6000 个细胞核表面的单个巨大细胞（图 18-36）。这样的安排可



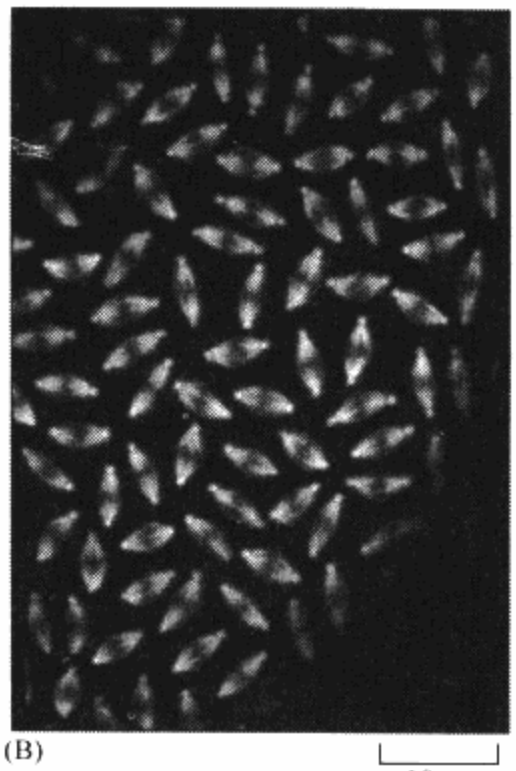


图 18-36　果蝇胚胎中不伴随胞质分裂的有丝分裂

（A）前 13 次核分裂同步发生而不伴随胞质分裂，从而形成巨大的多胞体。多数细胞核随后迁移到皮层，并且原生质膜向内凹陷并勒紧以环绕每个细胞核形成单个细胞，这一过程称为细胞化。（B）果蝇胚胎中期的多个有丝分裂纺锤体的荧光显微照片。微管被染成绿色，中心体为红色［（B）经 Kristina Yu and William Sullivan 许可］

观地提高了早期发育的速度，因为每次分裂细胞不需要花时间履行所有的胞质分裂步骤。经历了这些快速的核分裂之后，细胞会围绕着每个核形成，这一在一个轮次的协同胞质分裂过程称为**细胞化**。收缩环形成于细胞表面，质膜向内延伸并勒紧从而隔离每个细胞。

不伴随以胞质分裂的核分裂还发生在一些种类的哺乳动物细胞中。例如，破骨细胞、胚胎滋养层以及一些肝细胞和心肌细胞也通过这一途径成为多核体。

在高等植物中成膜体指导胞质分裂

多数高等植物细胞由半刚性的细胞壁包围，并且它们的胞质分裂的机制与刚才描述的动物细胞有所不同。与收缩环从外向内分割细胞不同，植物细胞的细胞膜是由两个子细胞间被称为**细胞板**的新生细胞壁从内到外分割的（图 18-37）。细胞板的定向决定了两个子细胞与邻近细胞的相对位置。由此得出结论，改变细胞分裂平面，以及通过膨胀或生长增大细胞，都会导致可以帮助确定植物形式的不同的细胞和组织形态。

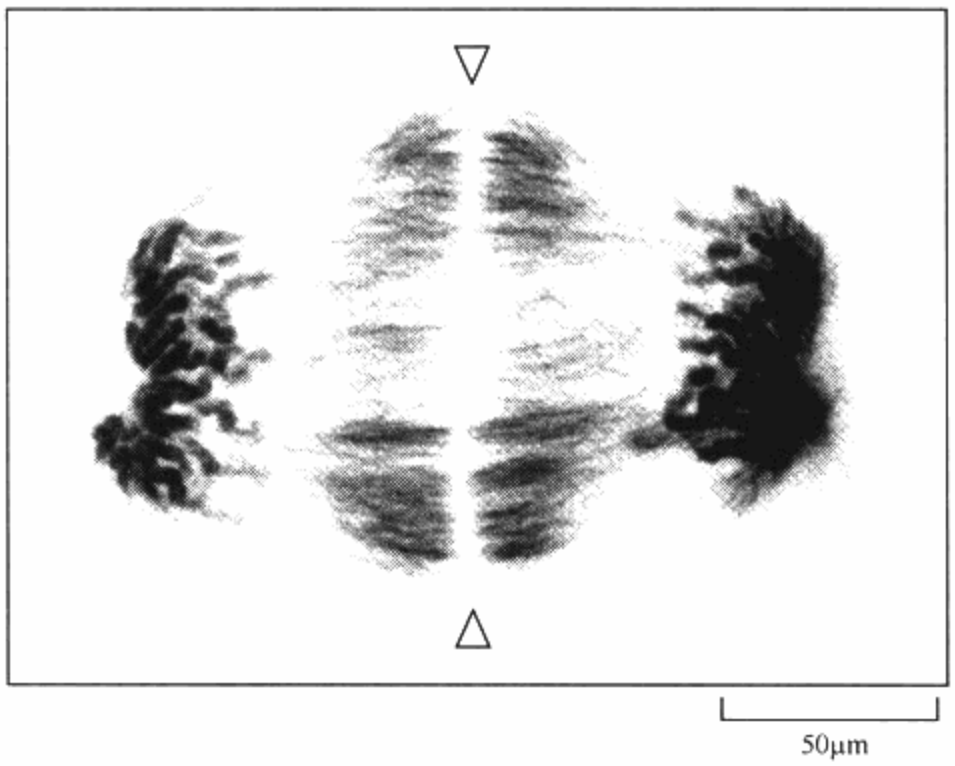


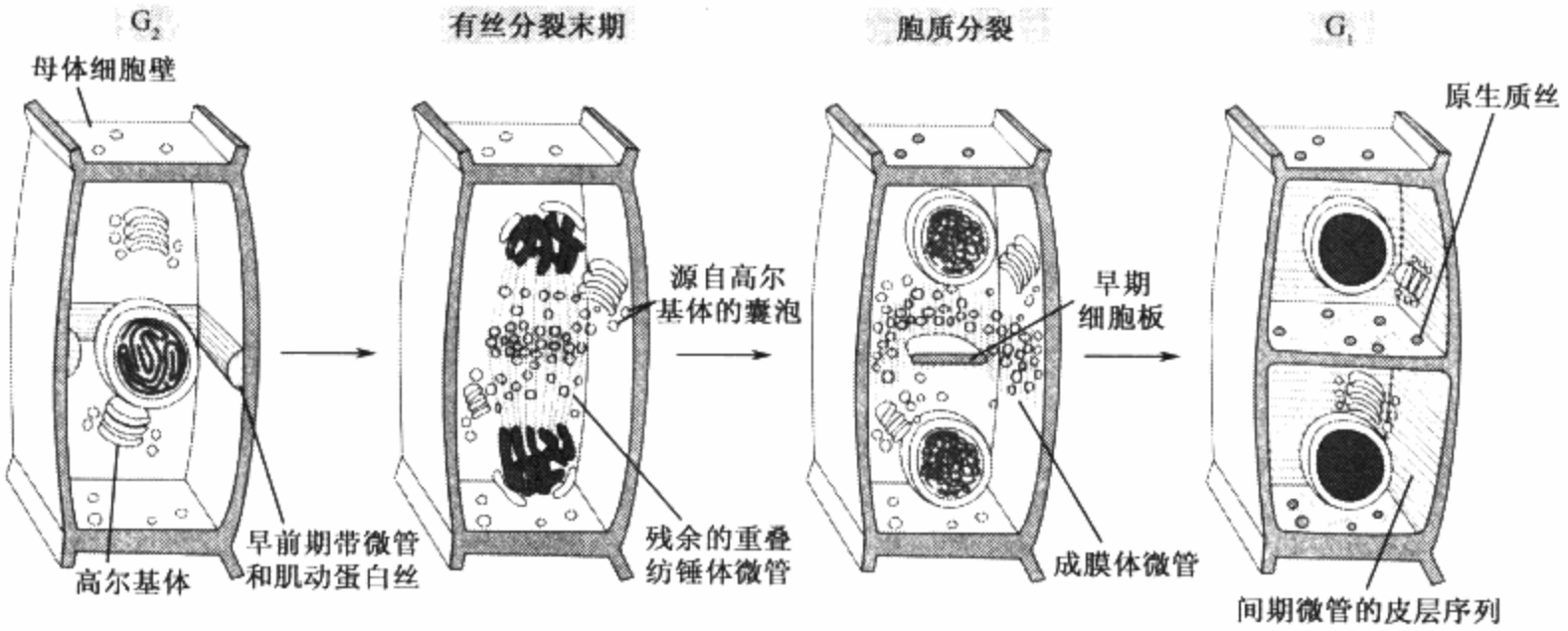
图 18-37　有丝分裂末期时一个植物细胞的胞质分裂

在这幅光学显微照片中，早期细胞板（在两个箭头之间）正在一个垂直纸面的平面内形成。纺锤体的微管用金标记的抗体微管蛋白染色，同时两个子细胞的 DNA 用一种荧光染料染色。注意这里没有星状体微管，因为在高等植物细胞中没有中心体（经 Andrew Bajer 许可）

有丝分裂纺锤体自身不足以决定细胞板的位置和方向。高等植物细胞已经着手在一个特定平面分裂的第一个可见的现象可在 G_2 期被观察到，就是在微管的皮层序列消失以准备有丝分裂时。在这一时刻，一道由胃管和肌动蛋白丝构成的圆周状带紧贴着原生质膜下形成包围整个细胞的环。由于这一细胞骨架序列在有丝分裂前期开始前出现，故被称做**早前期带（preprophase band）**。这条带随着细胞进行到前期而变细，并最终在中期到来之前完全消失。至此，分裂平面已经以某种方式被划定了：当新生细胞板将来在胞质分裂期间形成时，会向外生长，与母细胞壁精确地在先前早前期带占据的区域融合。即使在早前期带消失后离心除去细胞内容物，生长的细胞板仍然倾向于寻找先前早前期带确定的平面。

细胞板的组装开始于后期晚期，并且由一种被称为**成膜体（phragmoplast）**的结构指导。这一结构包含了在其生长着的正极相互交错的有丝分裂纺锤体剩余重叠微管。这一重叠区域

与动物细胞后期晚期的中心纺锤体在结构上类似。一些大多来自高尔基体并充满合成新生细胞壁基质所必需的多糖和糖蛋白的囊泡沿着微管被运输到成膜体的赤道面，很显然，这一过程依赖于微管马达蛋白。在这里，囊泡融合形成一个盘状的膜封闭的结构，成为早期细胞板（early cell plate）［图 18-9（G）］。早期细胞板通过进一步融合囊泡向外扩张，直到接触到原生质膜和原来的细胞壁并将细胞分为两个。而后，纤维素微纤维在细胞板的基质垒砌起来以完成新生细胞壁的构建（图 18-38）。



在G_2期的某一点，皮层微管和肌动蛋白丝重新排列形成一道紧贴原生质膜下环绕细胞的带。这一早前期带逐渐变窄并精确地预测在细胞分裂时新生细胞壁将在何处与母体细胞壁结合

成膜体由末期的重叠纺锤体微管形成。来自高尔基体地囊泡将与微管结合的细胞壁原料运到赤道区域堆积，并融合形成早期细胞板

成膜体微管在早期细胞板的外围形成。新生的来自高尔基体的囊泡被招募到这一区域，与细胞板边缘融合，并使之向外扩大

扩大中的细胞板的膜与母细胞的原生质膜融合，完成新生细胞壁。间期微管的皮层序列在两个子细胞中被重新复位

图 18-38　高等植物细胞胞质分裂的特征

分裂平面在 M 期之前就由位于细胞皮层的一道由微管和肌动蛋白丝构成的环带（早前期带）划定了。在末期的一开始，染色体被隔离之后，一道新的细胞壁在细胞内旧的纺锤体赤道面开始组装。末期的有丝分裂纺锤体重叠微管残余形成成膜体，并指导来自高尔基体的囊泡移向纺锤体中心。囊泡中充满了细胞壁材料并融合形成新生细胞壁，新生细胞壁向外生长并且在早先由早前期带决定的位点与原生质膜和原来的细胞壁接触。原生质膜和围绕新细胞壁的膜融合，完全隔离两个子细胞

高等生物精巧的 M 期是从原生生物的分裂机制逐渐进化而来的

原核生物细胞通过被称为**二分裂（binary fission）**的程序进行分裂。单个的环状 DNA 分子进行复制，通过细胞膜的内陷和两染色体间新细胞壁的铺设产生两个分离的子细胞。在大肠杆菌（*E. coli*）中，染色体复制之前，单个的复制起点（*oriC*）位于杆状细菌的一极。*oriC* 一被复制，一拷贝的序列就立刻位移到细胞相反一极，随后，剩余的染色体才被复制。正如动物细胞中的两个纺锤体极点星状体，细菌位于细胞极点的染色体一定程度上决定了细胞分裂平面的定位，确保分裂在细胞赤道发生，从而每个子细胞可以继承到一套染色体（图 18-39）。虽然一些相关的基因和蛋白质已经被分离出来，但负责激活 *oriC* 位移的机制以及除了赤道以外所有地方何以都不能分裂至今仍是未知。

原核生物的二分裂依赖于 FtsZ 蛋白组成的蛋白丝。FtsZ 是一种细胞质 GTP 酶，在结构上与微管蛋白相关，并且能够在细胞赤道组装成环［图 18-40（A），另见图 16-17］。FtsZ 丝

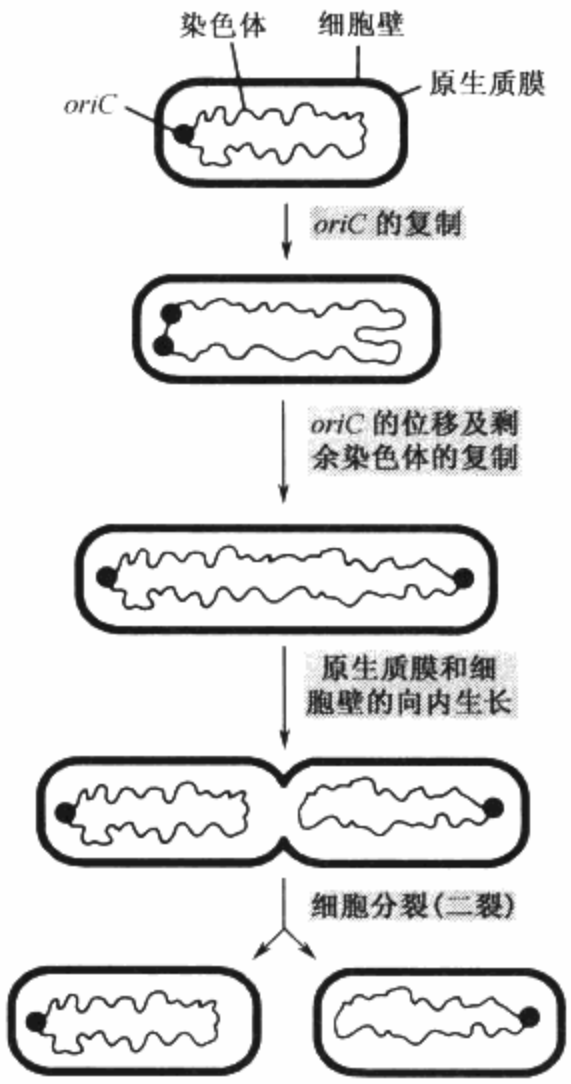


图 18-39　大肠杆菌细胞的分裂

单个的环状染色体包含一个被称为 *oriC* 的复制起点。在分裂之前，染色体先被极化，这样，*oriC* 处在细菌的一极。当 *oriC* 序列被复制后，剩余的染色体被复制前，其中的一个拷贝立刻积极地位移到另一极。细胞继续生长，并且当细胞达到一个适当的大小，原生质膜和细胞壁将会向内生长，精确地在两个子染色体间将细胞一分为二

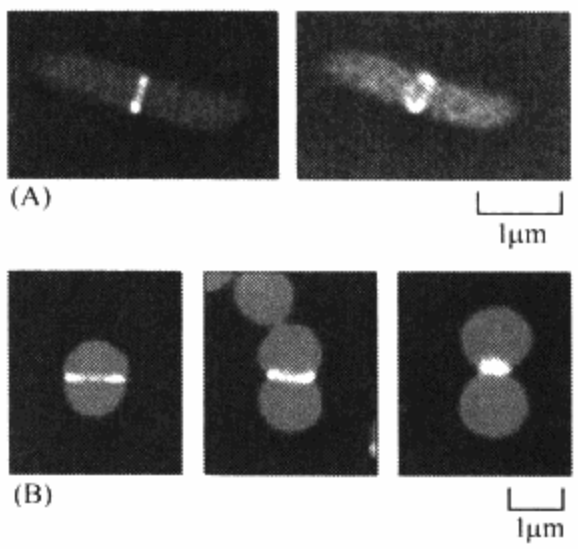


图 18-40　FtsZ 蛋白

(A) 荧光显微照片显示了在大肠杆菌二分裂过程中 FtsZ 蛋白的位置。蛋白质在细胞中心组装成一个环，在那里这个环帮助指挥细胞分裂。这里的细菌已经在遗传工程方面的操作下产生了蛋白质的荧光形式（FtsZ 与绿色荧光蛋白融合）。(B) 红藻中正在分裂的叶绿体（红色），它们同样利用 FtsZ 蛋白环（绿色）进行分裂（A，摘自 X. Ma，D. W. Ehrhardt，and W. Margolin，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93：12999～13003，1996. © National Academy of Sciences；B，摘自 S. Miyagishima et al.，*Plant Cell* 13：2257～2268，2001. © American Society of Plant Biologists）

对于所有其他细胞分裂蛋白向分裂位点的招募是必需的。这些蛋白质在一起指导细胞壁和细胞膜的内陷，导致将细胞分为两个的隔膜的形成。通过突变使 *ftsZ* 基因失去活性的细菌无法分裂。一种依赖于 *MtsZ* 基因的机制还被用于有关植物细胞叶绿体［图 18-40（B)］以及原生生物线粒体的分裂研究之中。在真菌和动物细胞中，另一个称为发动蛋白（dynamin）的自组装 GTP 酶（在第 13 章讨论）显然已经替代了 FtsZ 在线粒体分裂中的功能。

随着真核生物的进化，基因组的复杂性增加，染色体也在数量和大小方面增加。对于这些生物，很显然需要一种更精巧的机制用来在细胞间分配染色体。显然，有丝分裂机器不能一下子进化出来。在很多原始的真核生物，如腰鞭毛虫（*Cryphthecodinium cohnii*）中，有丝分裂依赖于一个膜连接的机制，在这一机制中，为了隔离，染色体必须附着到内核膜。这一巨大的单细胞藻类在它的染色体组成上反映出了一种中间状态。像那些原核生物一样，它的染色体的结合蛋白相对较少。腰鞭毛虫的核膜仍然在贯穿有丝分裂的时期保持完整，并且它的纺锤体微管仍然完全在核外。在这些纺锤体微管从外挤压核被膜的地方，被膜会沿一系列平行沟凹陷，并且染色体隔离发生在这些成沟的核膜内侧。这样，核外“纺锤体”是被用

于命令核膜并且以此方式定义分裂平面。这一物种的着丝粒看起来被嵌入了核膜，并且因此可能是由某些膜组分进化而来的。

真核生物的微管蛋白和原核生物的 FtsZ 很明显具有共同的进化历史。但是，微管对于染色体隔离即使在最原始的真核生物仍然十分重要（在第 16 章讨论）。鞭毛和纺锤体哪个首先

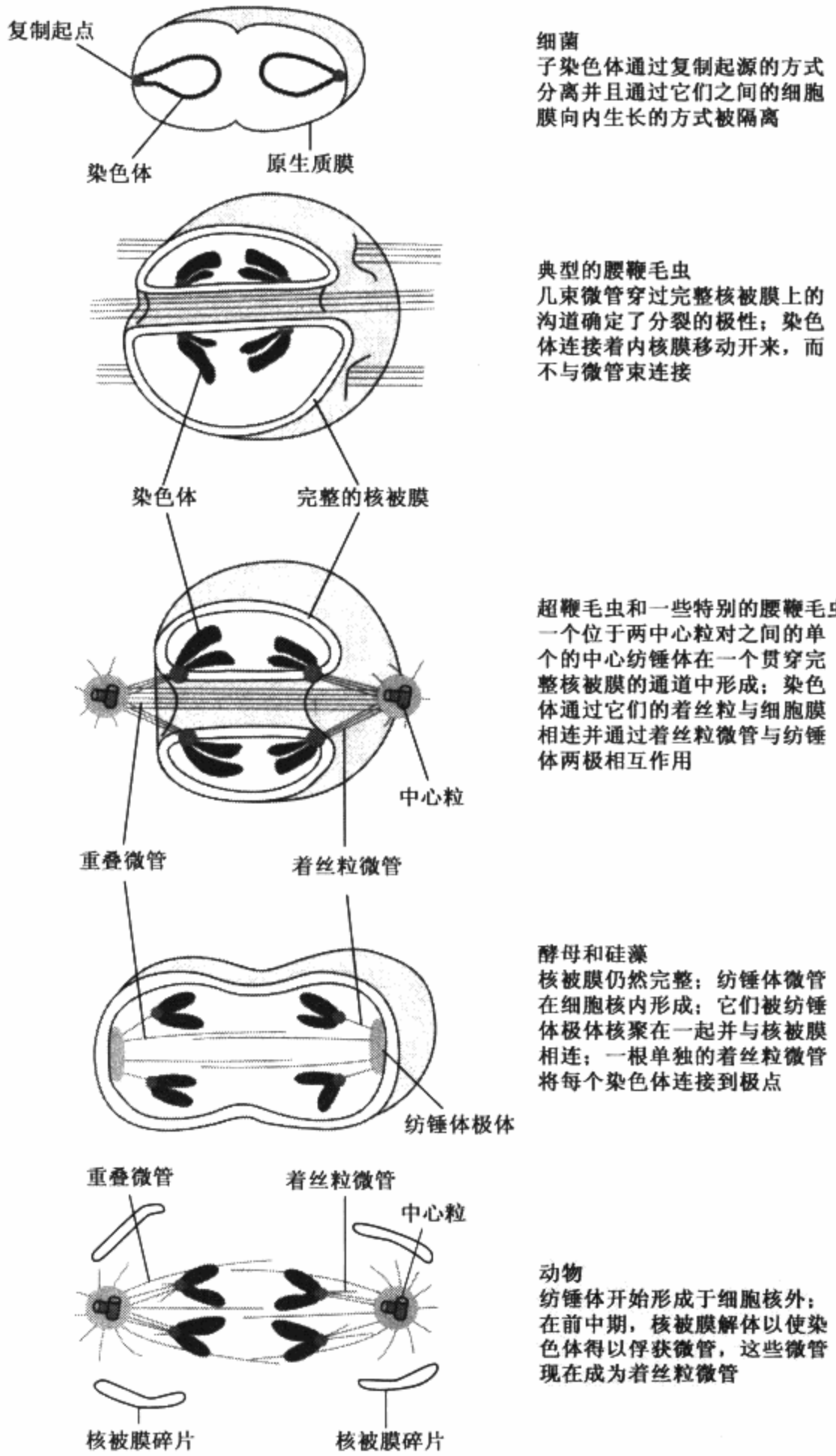


图 18-41　不同生物采取的不同染色体分离机制

这些过程中的一些是高等生物有丝分裂纺锤体进化中的中间阶段。除了细菌以外的其他例子中只有细胞的中央核区域被出示

进化至今仍不清楚。

一种尽管仍然在核外，但稍微先进一些的纺锤体，可以在超鞭目的鞭毛虫（*hypermastigote*）中被观察到，在这种生物中，核被膜同样贯穿有丝分裂期都保持完整。这些来自昆虫内脏中的巨大原生生物为纺锤体延长的独立性和分离染色单体的染色体运动提供了一个清晰的例子。在附着到纺锤体之前，姐妹着丝粒通过核膜（它们附着在此）的生长而分离。只有当着丝粒临近纺锤体两极时，它们才得到将它们连接到纺锤体所需的着丝粒微管。由于纺锤体微管仍然由于核被膜与染色体隔离，所以在核膜外形成的着丝粒微管必须以某种方式通过核膜与染色体连接。这一连接过程发生之后，着丝粒会以常规的方式被向极点牵引（图 18-41）。

纺锤体在完整细胞核内形成的生物代表了有丝分裂机制进化上的一个更为先进的阶段。在酵母和硅藻中，纺锤体通过它们的着丝粒与染色体相连，并且染色体的分离机制与在哺乳动物细胞中描述的大体相似——除了整个过程大体上在核被膜限定的区域内发生（图 18-41）。目前认为高等生物“开放式”的有丝分裂和酵母以及硅藻“封闭式”的有丝分裂是由一个类似现代 *hypermastigote* 纺锤体的共同祖先进化而来的。目前，关于为何高等植物和动物进化出需要受控而可逆的核被膜解体过程的有丝分裂机器，尚无令人信服的解释。

小结

细胞分裂在细胞质通过胞质分裂一分为二的时刻结束。除了植物，真核细胞的胞质分裂由收缩环介导，这一结构由肌动蛋白、肌球蛋白丝以及多种其他蛋白质组成。通过一种未知机制，有丝分裂纺锤体决定了收缩环在何时何处组装，并因而决定了细胞在何时何处分裂。多数细胞会对称地分裂以形成两个拥有同样成分和大小的细胞。尽管如此，一些细胞会特意地放置它们的纺锤体以进行不对称的分裂，产生两个大小，或成分，或两方面都不相同的子细胞。胞质分裂在植物细胞中以一种特别的机制发生——在这一机制中，细胞质由于新生细胞壁，即细胞内的细胞板的构建而被分隔。细胞板的位置由微管和肌动蛋白丝组成的早前期带的位置决定。真菌和一些原生生物有丝分裂的组织与植物和动物的不同，暗示了真核细胞分裂可能经历了的复杂的进化过程。

参考文献

一般文献

Hyams JS & Brinkely BR (eds) (1989) Mitosis: Molecules and Mechanisms. San Diego: Academic Press.

Wilson EB (1987) The Cell in Development and Heredity. 3rd edn. New York: Garland.

An Overview of M Phase

Hinchcliffe EH & Sluder G (2001) "It takes two to tango": understanding how centrosome duplication is regulated throughout the cell cycle. *Genes Dev.* 15, 1167–1181.

Hirano T (2000) Chromosome cohesion, condensation, and separation. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 115–144.

Hyman AA (2000) Centrosomes: Sic transit gloria centri. *Curr Biol.* 10, R276–R278.

Losada A & Hirano T (2001) Shaping the metaphase chromosome: coordination of cohesion and condensation. *Bioessays* 23, 924–935.

Mitchison TJ & Salmon ED (2001) Mitosis: a history of division. *Nature Cell Biol.* 3, E28–E34.

Morgan DO (1997) Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 261–291.

Moritz M & Agard DA (2001) Gamma-tubulin complexes and microtubule nucleation. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 11, 174–181.

Oakley BR (2000) Gamma-tubulin. *Curr. Top. Dev. Biol.* 49, 27–54.

Pines J & Rieder CL (2001) Re-staging mitosis: a contemporary view of mitotic progression. *Nat. Cell Biol.* 3, E3–E6.

Raff JW (2001) Centrosomes: Central no more? *Curr Biol.* 6, 11, R159–R161.

Rieder CL, Faruki S & Khodjakov A (2001) The centrosome in vertebrates: more than a microtubule-organizing center. *Trends Cell Biol.* 11, 413–419.

Sadler KC & do Carmo Avides M (2000) Orchestrating cell division. *Trends Cell Biol.* 10, 447–450.

Stearns T (2001) Centrosome duplication: a centriolar pas de deux. *Cell* 105, 417–420.

Mitosis

Amon A (1999) The spindle assembly checkpoint. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 9, 69–75.

Belmont LD, Hyman AA, Sawin KE & Mitchison TJ (1990) Real-time visualization of cell cycle-dependent changes in microtubule dynamics in cytoplasmic extracts. *Cell* 62, 579–589.

Brunet S & Vernos I (2001) Chromosome motors on the move: From motion to spindle checkpoint activity. *EMBO Rep.* 2, 669–673.

Cande WZ & Hogan CJ (1989) The mechanism of anaphase spindle elongation. *Bioessays* 11, 5–9.

Compton DA (2000) Spindle assembly in animal cells. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 95–114.

Desai A & Mitchison TJ (1997) Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 83–117.

Desai A, Maddox PS, Mitchison TJ & Salmon ED (1998) Anaphase A chromosome movement and poleward spindle microtubule flux occur at similar rates in Xenopus extract spindles. *J. Cell Biol.* 141, 703–713.

Desai A, Verma S, Mitchison TJ & Walczak CE (1999) Kin I kinesins are microtubule-destabilizing enzymes. *Cell* 96, 69–78.

Heald R, Tournebize R, Blank T et al. (1996) Self-organization of microtubules into bipolar spindles around artificial chromosomes in Xenopus egg extracts. *Nature* 382, 420–425.

Hoyt MA (2000) Exit from mitosis: spindle pole power. *Cell* 102, 267–270.

Hunter AW & Wordeman L (2000) How motor proteins influence microtubule polymerization dynamics. *J Cell Sci.* 24, 4379–4389.

Hyman AA & Karsenti E (1996) Morphogenetic properties of microtubules and mitotic spindle assembly. *Cell* 84, 401–410.

Mitchison TJ (1989) Polewards microtubule flux in the mitotic spindle: evidence from photoactivation of fluorescence. *J. Cell Biol.* 109, 637–652.

Mitchison TJ & Kirschner MW (1984) Dynamic instability of microtubule growth. *Nature* 312, 237–242.

Mitchison T, Evans L, Schulze E & Kirschner M (1986) Sites of microtubule assembly and disassembly in the mitotic spindle. *Cell* 45, 515–527.

Nasmyth K, Peters JM & Uhlmann F (2000) Splitting the chromosome: cutting the ties that bind sister chromatids. *Science* 288, 1379–1385.

Nislow C, Lombillo VA, Kuriyama R & McIntosh JR (1992) A plus-end-directed motor enzyme that moves antiparallel microtubules in vitro localizes to the interzone of mitotic spindles. *Nature* 359, 543–547.

Pines J & Rieder CL (2001) Re-staging mitosis: a contemporary view of mitotic progression. *Nat Cell Biol.* 3, E3–E6.

Rieder CL & Salmon ED (1994) Motile kinetochores and polar ejection forces dictate chromosome position on the vertebrate mitotic spindle. *J. Cell Biol.* 124, 223–233.

Rieder CL & Salmon ED (1998) The vertebrate cell kinetochore and its roles during mitosis. *Trends Cell Biol.* 8, 310–318.

Rudner AD & Murray AW (1996) The spindle assembly checkpoint. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8, 773–780.

Saunders WS, Lengyel B & Hoyt MA (1997) Mitotic spindle function in *Saccharomyces cerevisiae* requires a balance between different types of kinesin-related motors. *Mol. Biol. Cell* 8, 1025–1033.

Sharp DJ, Rogers GC & Scholey JM (2000) Microtubule motors in mitosis. *Nature* 407, 41–47.

Tournebize R, Popov A, Kinoshita K, Ashford AJ, Fybina S, Pozniakovsky A, Mayer TU, Walczak CE, Karsenti E, Hyman AA (2000) Control of microtubule dynamics by the antagonistic activities of XMAP215 and XKCM1 in *Xenopus* egg extracts. *Nat. Cell Biol.* 2, 13–19.

Walczak CE, Mitchison TJ & Desai A (1996) XKCM1: A Xenopus kinesin-related protein that regulates microtubule dynamics during mitotic spindle assembly. *Cell* 84, 37–47.

Waterman-Storer CM, Desai A, Bulinski JG & Salmon ED (1998) Fluorescent speckle microscopy, a method to visualize the dynamics of protein assemblies in living cells. *Curr. Biol.* 8, 1227–1230.

Wittmann T, Hyman A & Desai A (2001) The mitotic spindle: a dynamic assembly of microtubules and motors. *Nature Cell Biol.* 3, E28–E34.

Zhang D & Nicklas RB (1995) The impact of chromosomes and centrosomes on spindle assembly as observed in living cells. *J. Cell Biol.* 129, 1287–1300.

Cytokinesis

Conrad GW & Schroeder TE (eds) (1990) Cytokinesis: Mechanisms of Furrow Formation During Cell Division. Ann. NY. Acad. Sci., vol. 582. New York: Academy of Sciences.

Field D, Li R & Oegema K (1999) Cytokinesis in eukaryotes: a mechanistic comparison. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 68–80.

Glotzer M (1997) The mechanism and control of cytokinesis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 815–823.

Harry EJ (2001) Bacterial cell division: regulating Z-ring formation. *Mol. Microbiol.* 40, 795–803.

Heese M, Mayer U & Jurgens G (1998) Cytokinesis in flowering plants: cellular process and developmental integration. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 486–491.

Horvitz HR & Herskowitz I (1992) Mechanisms of asymmetric cell division: two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell* 68, 237–255.

Jacobs C & Shapiro L (1999) Bacterial cell division: a moveable feast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 5891–5893.

Knoblich JA (2001) Asymmetric cell division during animal development. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 11–20.

Lecuit T & Wieschaus E (2000) Polarized insertion of new membrane from a cytoplasmic reservoir during cleavage of the *Drosophila* embryo. *J. Cell Biol.* 150, 849–860.

Margolin W (2000) Themes and variations in prokaryotic cell division. *FEMS Microbiol. Rev.* 24, 531–548.

Nanninga N (2001) Cytokinesis in prokaryotes and eukaryotes: common principles and different solutions. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65, 319–333.

Rappaport R (1996) Cytokinesis in Animal Cells. Cambridge, New York: Cambridge University Press.

Robinson DN & Spudich JA (2000) Towards a molecular understanding of cytokinesis. *Trends Cell Biol.* 10, 228–237.

Segal M & Bloom K (2001) Control of spindle polarity and orientation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Trends Cell Biol.* 11, 160–166.

Sharpe ME (1999) Upheaval in the bacterial nucleoid: an active chromosome segregation mechanism. *Trends Genet.* 15, 70–74.

Shima DT, Cabrera-Poch N, Pepperkok R & Warren G (1998) An ordered inheritance strategy for the Golgi apparatus: visualization of mitotic disassembly reveals a role for the mitotic spindle. *J. Cell Biol.* 141, 955–966.

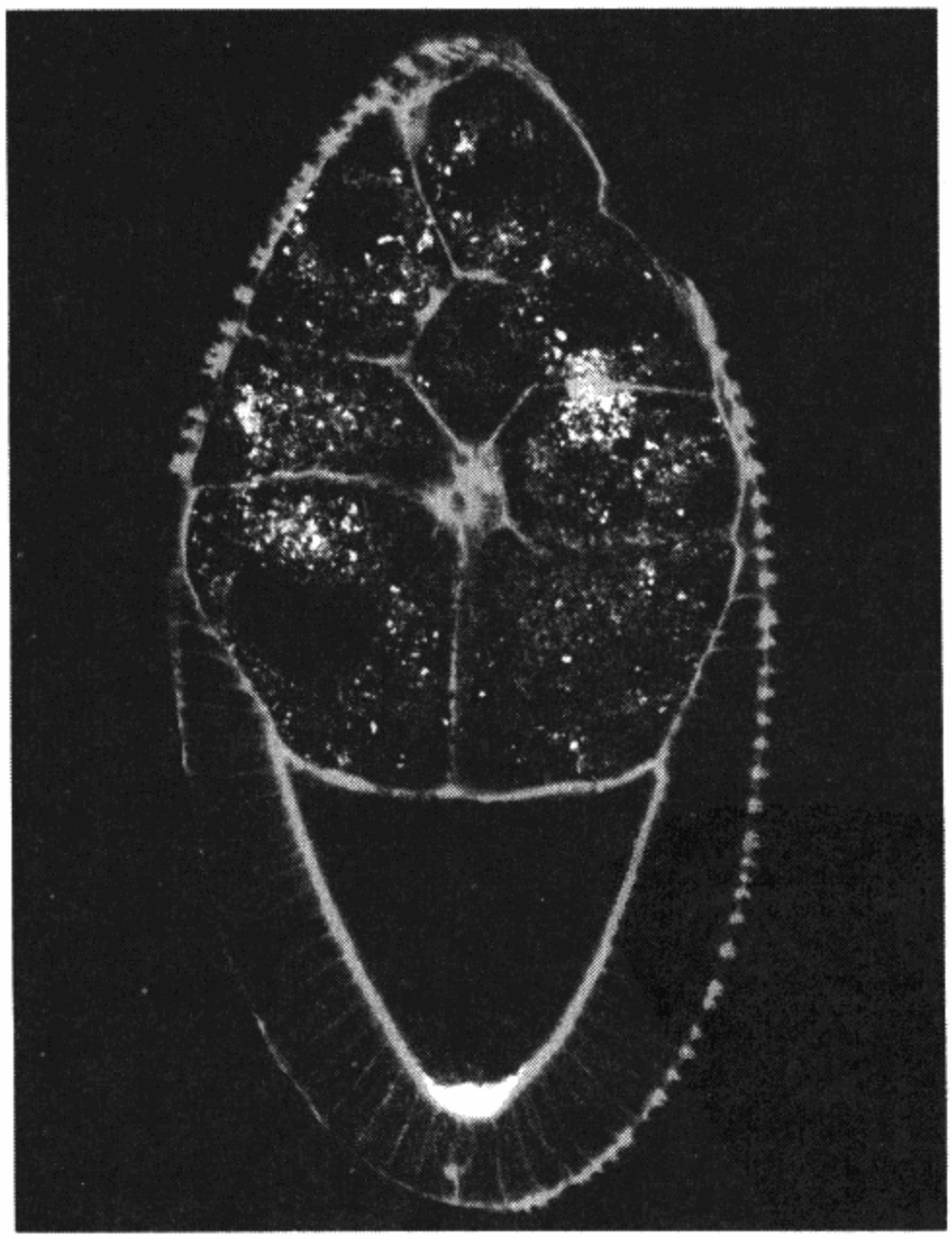
Smith L (1999) Divide and conquer: cytokinesis in plant cells. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 447–453.

Sylvester AW (2000) Division decisions and the spatial regulation of cytokinesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 58–66.

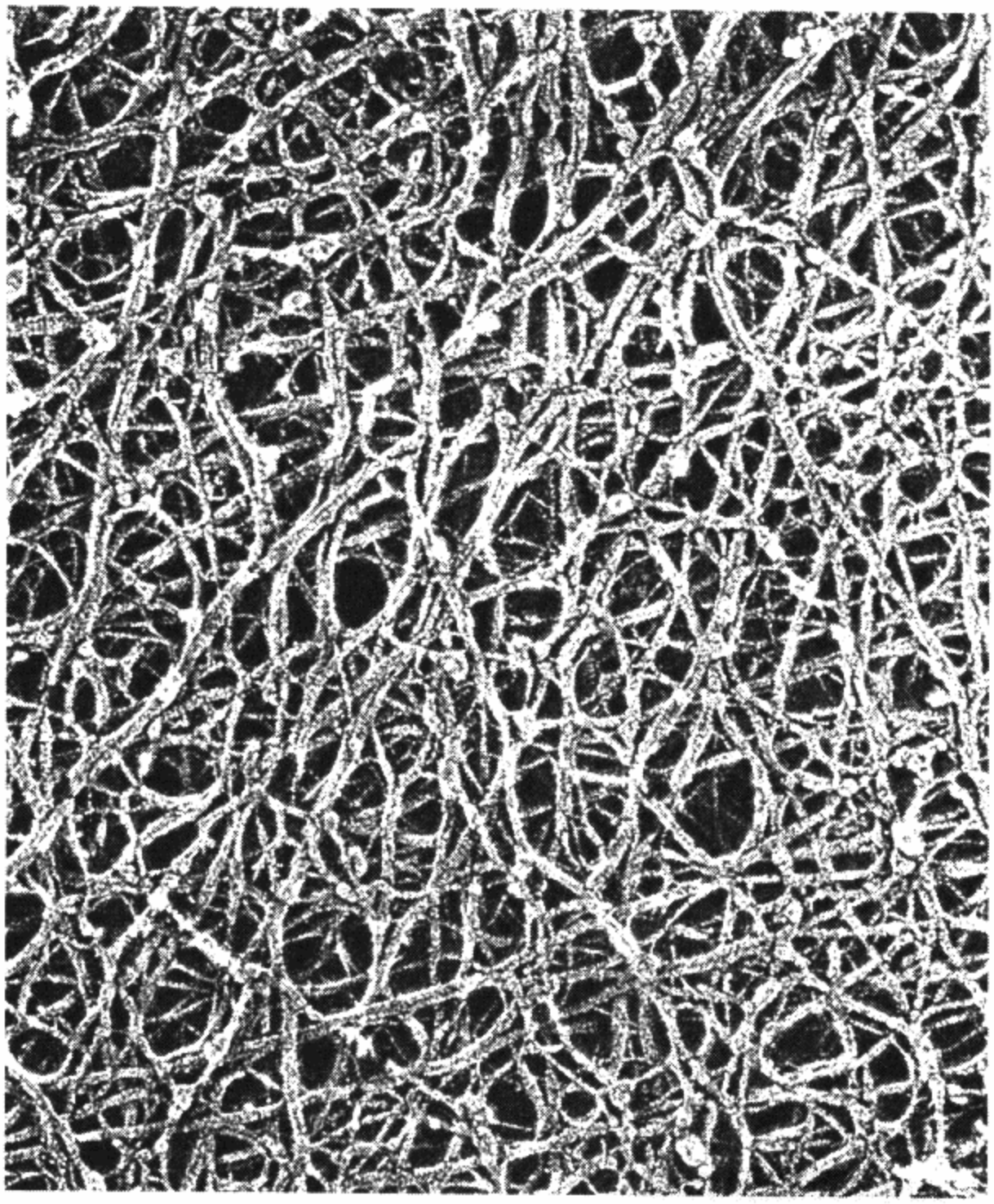
Wolf WA, Chew TL & Chisholm RL (1999) Regulation of cytokinesis. *Cell Mol. Life Sci.* 55, 108–120.

第Ⅴ部分　在“社会背景”中的细胞

19　细胞连接、细胞黏着和细胞外基质
20　生殖细胞和受精
21　多细胞生物的发育
22　组织学：组织中细胞的生存和死亡
23　癌症
24　获得性免疫系统
25　病原体、感染和先天性免疫



多细胞生物体的生命从受精卵开始。在这个果蝇卵泡中，细胞组分的轮廓由位于质膜下面的肌动蛋白（被染成红色）显示。在底部的那个大细胞是卵细胞，它含有不对称分布的蛋白质 Staufen（绿色）。在这个卵细胞周围，是一排滤泡细胞；在卵细胞的顶部，是一群大的抚育细胞（经 Daniel St Johnston 许可）



植物细胞壁：动物和植物的细胞外基质都由坚韧的纤维构成，外包一层类似凡士林的间质，此图描绘了提取的洋葱细胞壁结构，揭示了坚韧、承重的纤维组成的网络

19　细胞连接、细胞黏着和细胞外基质

细胞连接
细胞间黏着
动物的细胞外基质
整联蛋白
植物细胞壁

在这一章里，我们来讨论是什么把多细胞生物体的众多细胞结合在一起。细胞是小的、可变形的，并且经常是运动的；它还充满了水介质并且被脆弱的质膜包围起来。然而，它们可以成千上万地结合在一起形成一个大而坚固并且严格有序的结构，如一匹马或者一棵树。我们必须解释是什么给了这样的多细胞组合以强度和保持细胞在其适当的位置。

动物和植物的“建筑工艺”是不一样的，并且每种器官是由多种类型的组织（tissue）构成，在这些组织中，细胞以不同的方式结合并装配在一起。然而，在动物和植物中的多数组织中，细胞外基质都起着重要的作用。由分泌的细胞外大分子构成的网络结构具有很多功能，但是首先也是最主要的作用是，它形成了支持骨架。支持骨架使细胞和组织结合在一起，并且它为动物提供一个有序的环境，在这个环境中，迁移细胞以有序的方式移动和彼此相互作用。然而，细胞外基质只起了一半的作用。特别是在动物中，许多组织的细胞都是彼此直接通过细胞连接结合在一起。细胞连接也有很多类型，除了机械结合外还起很多其他的作用，如果没有细胞连接，我们的身体就会瓦解。

在脊椎动物中，主要的组织类型有神经组织、肌肉组织、血液组织、淋巴组织、上皮组织和结缔组织。结缔组织和上皮组织代表了组织中的两个极端（图 19-1）。在**结缔组织**中，细胞外基质非常丰富，细胞稀疏的分散在其中。这些基质富含纤维多聚体，特别是胶原。正是基质

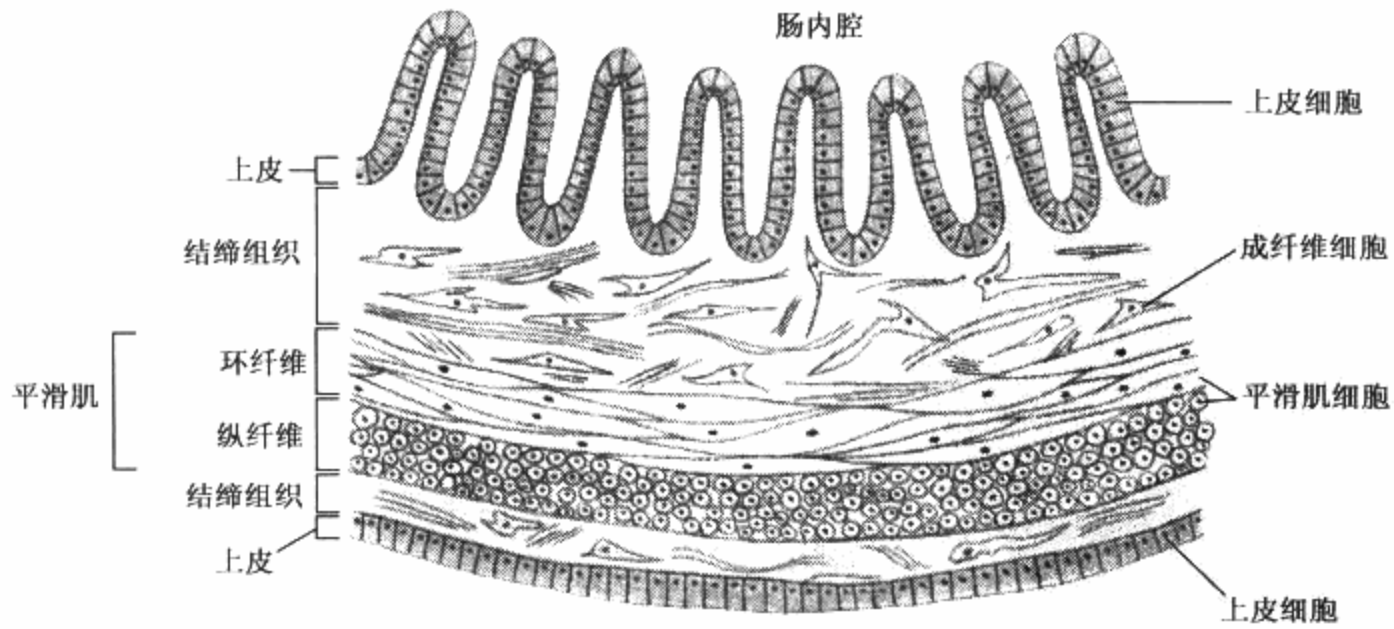


图 19-1　部分小肠壁的横截面

这个长的、管状器官由上皮组织（红）、结缔组织（绿）和肌肉组织（黄）组成。每种组织都是通过细胞-细胞连接，或者细胞外基质，或者通过两者，把很多细胞组织起来形成的

（而不是细胞）承担了组织遭受的大部分的机械压力。而细胞与细胞之间的直接附着相对较少。

相比较而言，在**上皮组织**中，细胞紧密地结合在一起形成片层，称为**上皮细胞（epithelia）**。这里细胞外基质比较少，主要含有一种叫做基膜（basal lamina）的薄片层结构，它位于上皮细胞的下面。这些细胞彼此通过细胞-细胞黏着结合在一起，它们承受了大部分的机械压力。为了这个目的，细胞内坚固的蛋白质细丝（细胞骨架的成分）穿过每个上皮细胞的细胞质，附着在位于细胞膜上的特异结合点上。这些连接反过来把邻近的细胞表面结合在一起，或者把细胞与基膜连接。

上皮细胞层被覆在身体表面和体内所有腔、管、囊的内面。细胞间特异的连接使上皮组织形成屏障，阻止水、溶质和细胞从身体的一个部分移动到另外一个部分。正如图 19-1 所示，上皮组织总是在结缔组织这一支持基层之上。这个支持基层反过来也把它们与其他组织相连，如在图中显示的肌肉组织。以这样的方式，组织通过不同的联合方式连接在一起，形成更大的功能单位——器官（organ）。

在这一章，我们首先讨论一下细胞-细胞连接和细胞-基质连接的结构与作用，这些连接都被称作细胞连接（cell junction）。接着我们来讨论动物细胞在迁移和装配成组织和器官的过程中，是怎样彼此识别和结合在一起的，这个过程被称为细胞黏着（cell adhesion）。然后我们讨论动物细胞外基质的结构和组织，和主要的细胞表面受体——动物细胞通过这些受体与基质结合。最后，我们来介绍在每个植物细胞周围的特殊的细胞外基质——植物细胞壁。

细胞连接

特异的**细胞连接**发生在所有组织中细胞-细胞和细胞-基质接触的地方，在上皮组织中尤其丰富。通过传统的显微技术或者冷冻蚀刻电子显微技术（见第 9 章）对细胞连接进行大量的研究表明：在这些区域相互作用的质膜（和位于质膜下的细胞质，还有细胞间隙）都是高度特化的。

细胞连接可以根据其功能的不同，分为三类：

1. **封闭连接（occluding junction）**把上皮组织中的细胞紧密地连接在一起，阻止甚至小分子从上皮细胞层一侧渗透到另一侧。

2. **锚定连接（anchoring junction）**把细胞（和它们的细胞质骨架）与它们相邻的细胞或者细胞与细胞外基质机械地连接起来。

3. **通讯连接（communicating junction）**介导电化学信号从一个细胞传导到另一个细胞。

细胞间连接的主要类型在表 19-1 中列出。除了在第 11 章和第 15 章中进行讨论的，只在神经细胞间形成的化学突触外，我们将逐个介绍它们。

表 19-1　根据功能不同对细胞连接的分类

封闭连接	**锚定连接中间纤维丝附着位点**
1. 紧密连接（只存在脊椎动物中）	1. 细胞-细胞连接（桥粒）
2. 间壁连接（主要存在无脊椎动物中）	2. 细胞-基质连接（半桥粒）
锚定连接	**通讯连接**
肌动蛋白丝附着位点	1. 间隙连接
1. 细胞-细胞连接（黏着带）	2. 化学突触
2. 细胞-基质连接（黏着斑）	3. 胞间连丝（仅限植物中）

封闭连接通过上皮细胞层形成了一个选择透过性屏障

所有的上皮细胞至少共同具有一种重要的功能：它们作为选择通过性屏障，使位于不同侧的液体具有不同的化学组成。这个功能需要相邻的细胞通过紧密连接紧密地结合在一起。在脊椎动物中，就像前面哺乳动物小肠或内脏的图所示，**紧密连接（tight junction）**具有这个屏障的作用。

上皮细胞在小肠内形成一个屏障，使肠子内的组分保持在肠腔内。然而，这些细胞同时还必须选择性地从内腔向细胞外基质转运营养物质，然后再渗透到在另一侧的结缔组织（图19-1）。从结缔组织，这些营养物质扩散到毛细血管，向生物体提供营养。这种透过细胞的转运，依靠两种与膜结合的膜转运蛋白：一种位于上皮细胞顶部表面（面向内腔的面），从肠腔内选择性地向细胞中转运营养分子；另一种位于细胞的基侧面（基部和侧面），它以协助扩散的方式允许吸收进的分子从细胞中向细胞另一侧的细胞外基质扩散。为了维持这种定向的转运，位于顶部的这一类转运蛋白不能迁移到细胞的基部表面，位于基侧部的转运蛋白也不能迁移到顶部表面。此外，上皮细胞之间的空隙必须紧密地结合在一起，使转运过的分子不能通过这些空隙再扩散回到肠腔内（图19-2）。

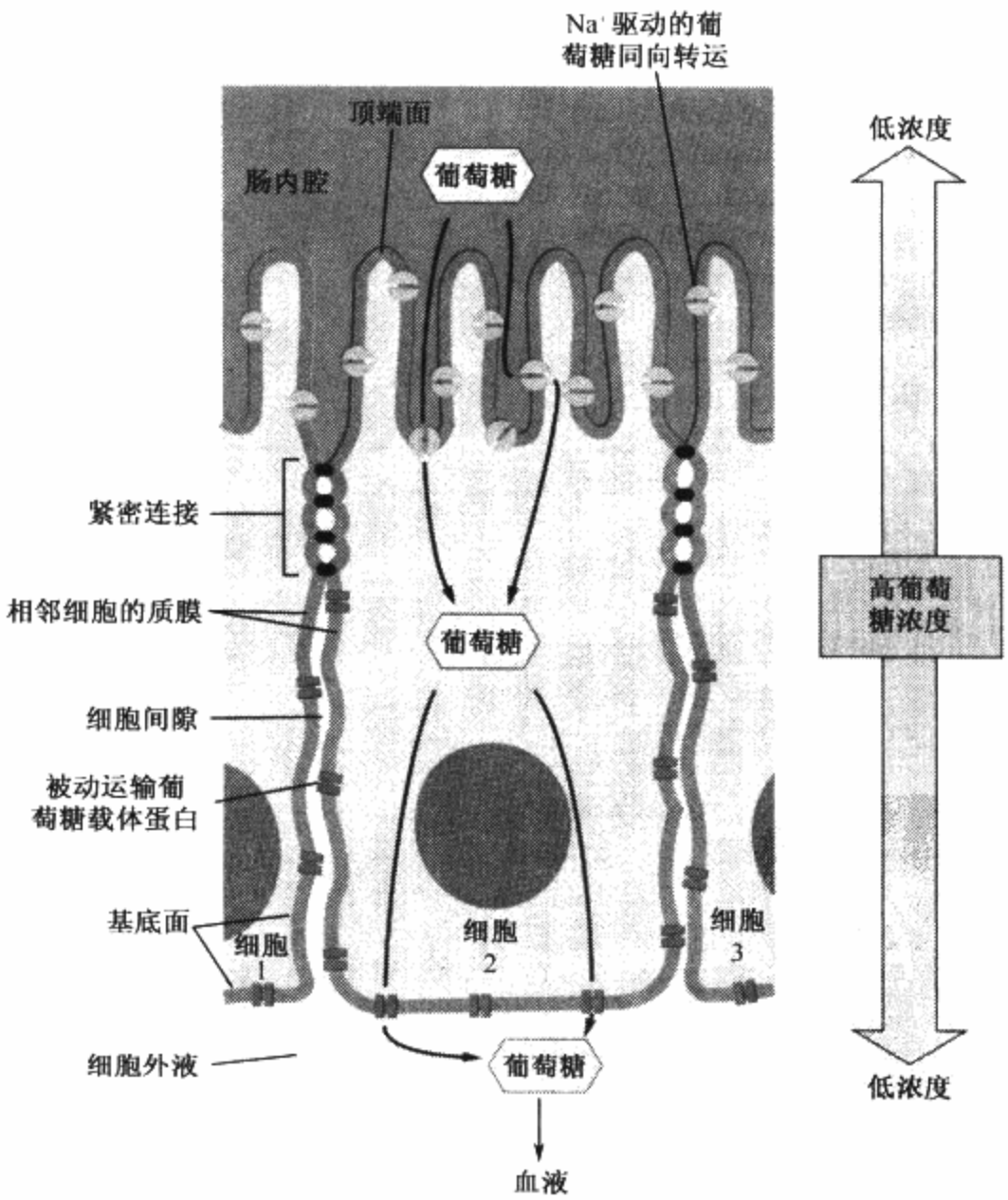


图 19-2　在跨细胞转运中紧密连接的作用

小肠上皮细胞中，转运蛋白被定位于不同的质膜区域，这种分离允许营养物质从肠内腔通过上皮细胞向血液中转运。在所示的例子中，葡萄糖通过 Na^+ 驱动的共转运，在细胞顶部主动运输到细胞中。然后通过协助扩散从细胞底部离开细胞。紧密连接作为扩散屏障，被认为限制转运蛋白在其适当的区域。这些连接也阻止葡萄糖从细胞底部逆流到肠内腔中

一般认为上皮细胞间的紧密连接有两个作用。一是，它们作为阻止一些膜蛋白（和油脂）在质膜顶部和基侧部之间扩散的屏障（图 19-2）。如果紧密连接被破坏，例如，降低细胞外基质 Ca^{2+} 的浓度，这类蛋白质和油脂就会混合。二是，紧密连接把相邻细胞紧密联系在一起，如果在上皮细胞一侧加入低分子质量的示踪分子，通常情况下不会通过紧密连接（图 19-3）。然而这个封闭也不是绝对的。虽然所有的紧密连接对于大分子来说都是不可透过的，但是对于小分子的透过性，在不同的上皮细胞中有较大变化。例如，小肠上皮细胞的紧密连接对于 Na^+ 的渗透性比膀胱上皮大 10 000 倍。这些差别反映了形成紧密连接的蛋白质的不同。

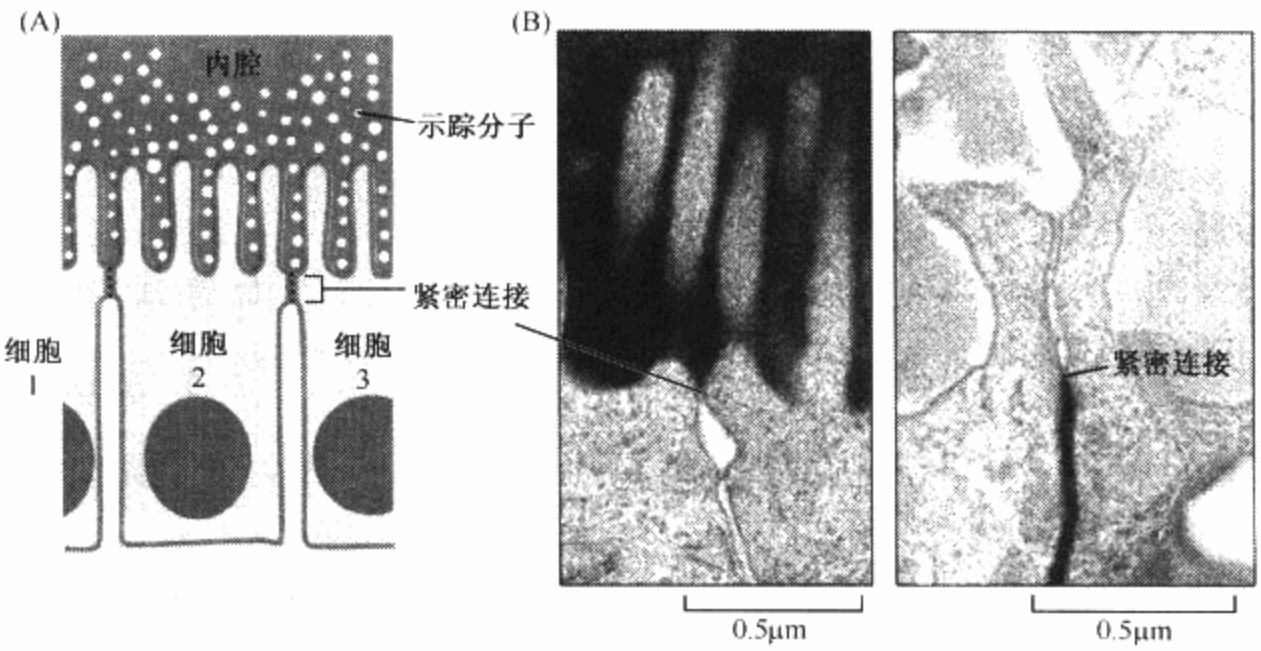


图 19-3　紧密连接在作为溶质扩散屏障中的作用

（A）模式图显示了加入上皮细胞一侧的示踪分子不能穿过紧密连接。（B）上皮细胞的电镜显微照片，电子密集的示踪分子被加到顶部一侧（左边图），或者被加到底部一侧（右边图）。在两种情况下，示踪分子都不能穿过紧密连接［（B）经 Daniel Friend 许可］

上皮细胞可以暂时改变它们的紧密连接，允许更多的水和溶质流入连接屏障。这种旁细胞运输（paracellular transport）在小肠吸收氨基酸和单糖的过程中非常重要；在小肠中，它们的浓度在饭后可以按照需要的方向进行被动运输。

用冷冻蚀刻电子显微技术观察紧密连接显示：紧密连接由完全围绕在上皮细胞顶部的焊接线分支网络组成［图 19-4（A）和（B）］。用传统电子显微镜观察，焊接线出现的地方，相邻的细胞膜紧密地并靠在一起［图 19-4（C）］。紧密连接限制离子从细胞间的空隙通过的能力，与焊接线的个数成对数相关，这表明焊接线对于离子流动的阻碍作用是相互独立的。

紧密连接的焊接线由一排跨膜蛋白组成，这种跨膜蛋白同时跨过相互作用的两个细胞的质膜。这些蛋白质的细胞外结构域彼此结合，封闭细胞间隙（图 19-5）。紧密连接中主要的跨膜蛋白是 claudin，它对紧密连接的形成和功能非常重要，并且在不同的紧密连接中有所不同。例如，在肾上皮细胞发现的一种 claudin，对尿液中的 Mg^{2+} 的再吸收是必需的。如果编码这一蛋白质的基因发生突变，将会导致尿液中含有过量的 Mg^{2+}。紧密连接中另一种重要的跨膜蛋白是封闭蛋白（occludin），这种蛋白质的功能目前还不确定。claudin 和封闭蛋白与细胞内的周边蛋白 ZO 结合，该蛋白质把焊接线与细胞质骨架相连。

除了 claudin、封闭蛋白、ZO 蛋白之外，还有其他的几种蛋白质与紧密连接相关。这些蛋白质包括维持上皮细胞极性的蛋白质和帮助指导质膜组分正确运输和定位的蛋白质。因此，紧密连接在复杂的细胞程序中可能是作为调节中心发挥作用的。

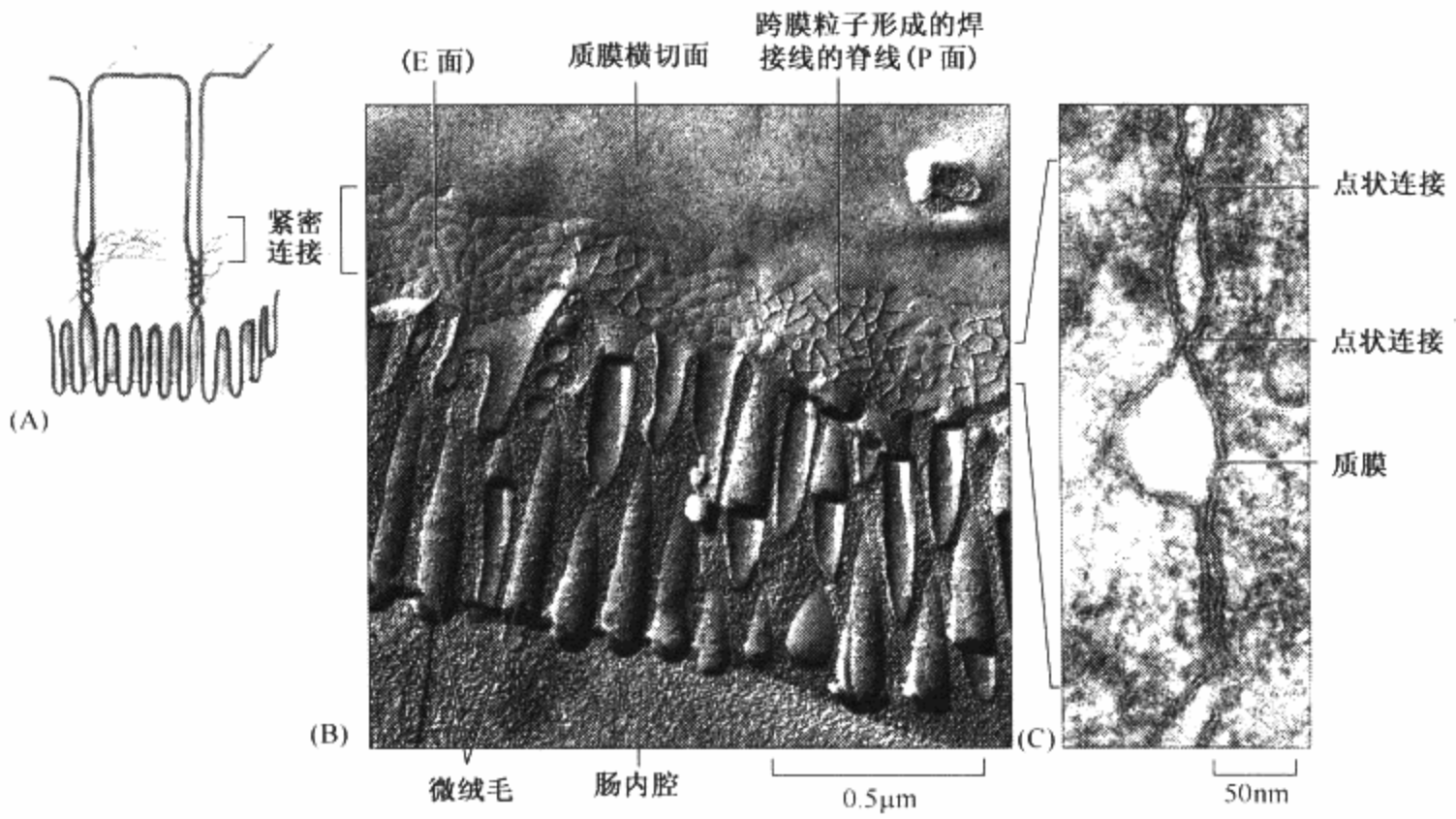


图 19-4　小肠上皮细胞间的紧密连接的结构

显示的紧密连接：(A) 模式图；(B) 冷冻蚀刻电镜照片；(C) 传统电子显微镜下的照片。注意这些细胞的顶部都是朝下的。在 (B) 中，照片平面与细胞膜平面平行，这里的紧密连接看起来像是带状的分支焊接线，绕在每个上皮细胞上。焊接线在细胞质面 (p 面) 看起来像是细胞内膜颗粒的嵴，或者是细胞质膜外面 (E 面) 互补的沟。[图 19-5 (A)]。在 (C) 中，紧密连接呈现十字交叉状，因为在两个相互作用的细胞膜间存在一系列的点状连接。每处连接相应于一个焊接线的横截面。[(B) 和 (C) 摘自 N. B. Gilula, in Cell Communication [R. P. Cox, ed.], pp. 1～29. New York: Wiley, 1974. Reprinted by permission of John Wiley & Sons, Inc]

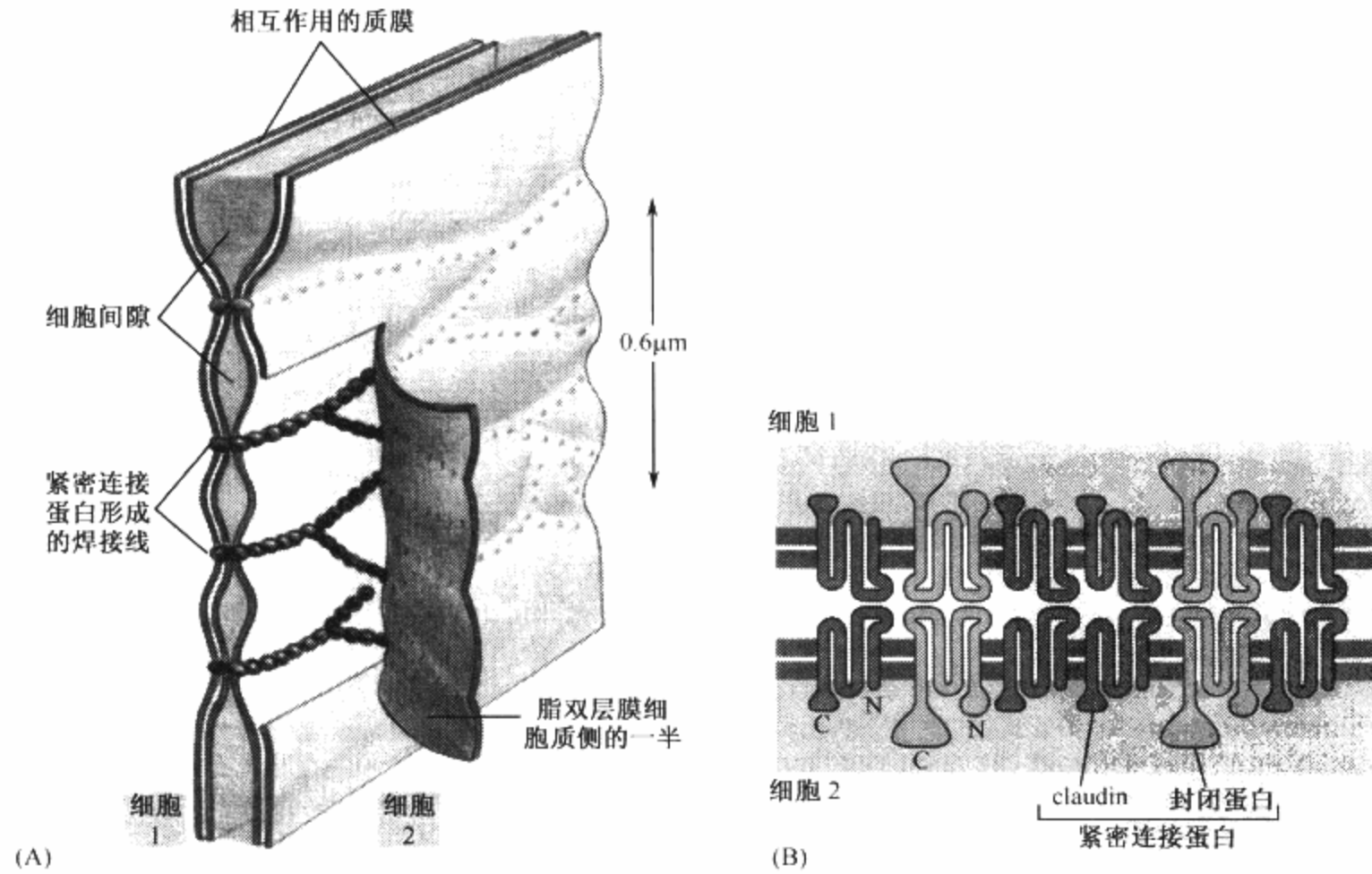


图 19-5　一个通用的紧密连接模式图

(A) 这幅图显示了焊接线是怎样把相邻的细胞质膜维持在一起的。焊接线是由穿过膜相互作用的跨膜蛋白组成。(B) 这幅图显示紧密连接中的封闭蛋白和 claudin 蛋白。claudin 蛋白是焊接线的主要成分，封闭蛋白的作用还不是很清楚

在无脊椎动物中，封闭连接的主要形式是**间壁连接（septate junction）**。间壁连接同样也在上皮细胞周围形成连续的条带，并且在结构上比紧密连接更规则。但是，间壁连接与紧密连接在形态学上是完全不同的，因为间壁连接中，相互作用的两个细胞质膜，被两排平行排列的、并具有周期性的蛋白质结合在一起（图 19-6）。一种称为 *Discs-large* 的蛋白质，在果蝇的间壁连接的形成中是必需的，与在脊椎动物紧密连接中发现的 ZO 蛋白在结构上具有相关性。不能合成这个蛋白质的突变果蝇体中，不仅缺少间壁连接，而且会发生上皮肿瘤。这暗示，增殖细胞中上皮组织的正常调节，可能部分依赖于由封闭连接发出的细胞内信号。

图 19-6　间壁连接

一软体动物两上皮细胞间间壁连接的电镜照片。相互作用的质膜，通过两排平行的连接蛋白连接在一起。这两排蛋白质具有周期性，图中浓密的条状（摘自 N. B. Gilula，in Cell Communication [R. P. Cox，ed.]，pp. 1～29. New York：Wiley，1974. Reprinted by permission of John Wiley & Sons，Inc.）

锚定连接把相邻细胞的骨架相连或者把细胞骨架与细胞外基质相连

脂质层是脆弱的，不能把大的机械力从一个细胞传到另一个细胞，或者从细胞转到细胞外基质。锚定连接通过形成一个坚固的膜斑结构，解决了这个问题。膜斑结构在细胞内与能承受张力的细胞骨架的纤丝连接在一起（图 19-7）。

锚定连接在动物组织中广泛分布，在经常承受强的机械应力的组织中尤其丰富，如心脏、肌肉和表皮。它们主要由两种蛋白质组成（图 19-8）。细胞内附着蛋白（intracellular anchor protein）在质膜的细胞质面形成清晰的斑块，把中间纤维或者肌动蛋白纤维与连接复合体结

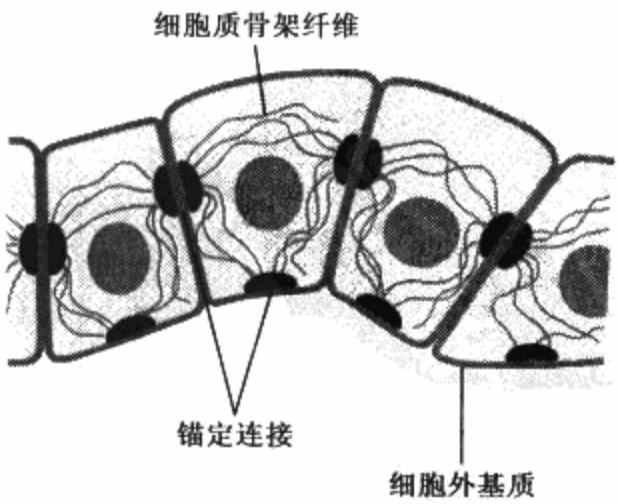


图 19-7　上皮组织中的锚定连接

这幅图以一个普遍的方式，说明了锚定连接是怎样把细胞间的细胞质骨架连接在一起，又是如何把细胞质骨架与细胞基质相连的

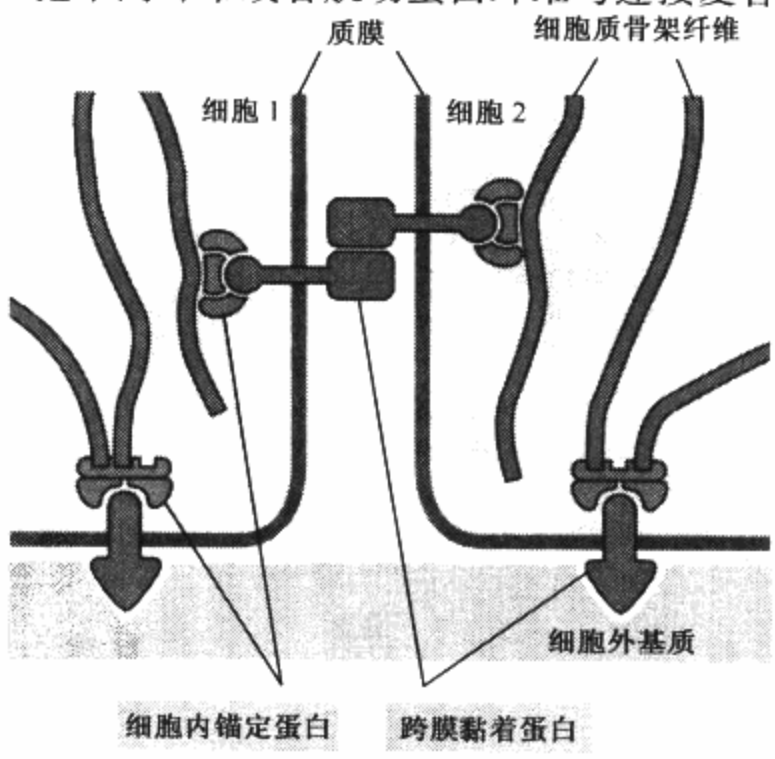


图 19-8　锚定连接由两种不同的蛋白质构建

这幅图显示了细胞内锚定蛋白和跨膜连接蛋白形成了锚定连接

合在一起；跨膜连接蛋白（transmembrane adhesion protein）在细胞质侧有一个尾，可以与一个或者多个细胞内附着蛋白相连，而其细胞外结构域可以与细胞外基质，或者另外一个细胞的跨膜连接蛋白相互作用。除了附着蛋白和连接蛋白外，许多锚定连接还包含能使锚定连接把信号传到细胞内部的信号蛋白。

锚定连接有两种功能形式：

1. 黏着连接（adherens junction）和桥粒（desmosome）把细胞维持在一起，由属于钙黏蛋白家族（cadherin family）的跨膜连接蛋白组成。

2. 黏着斑（focal adhesion）和半桥粒（hemidesmosone）把细胞与细胞外基质相连，由属于整联蛋白家族（integrin family）的跨膜连接蛋白组成。

在细胞质膜内侧，黏着连接和黏着斑是肌动蛋白纤维连接的位点，而桥粒和半桥粒是中间纤维的连接位点（表 19-1）。

黏着连接把细胞间的肌动蛋白束连接在一起

黏着连接存在着很多不同的形式。在许多非上皮组织中，黏着连接以小点状，或者条纹状间接地附着在相互作用的细胞质膜下面的皮层肌动蛋白丝上。但是在上皮细胞中，黏着连接的典型例子，往往是在紧密连接下面，围绕相互作用的细胞形成连续的**黏着带（adhesion belt 或 zonula adheren）**。黏着带并列在相邻的上皮细胞中，由钙黏蛋白作为跨膜连接蛋白，把细胞质膜连接在一起。

在每个细胞中，与黏结带相连的肌动蛋白纤维形成平行于细胞膜的可收缩的纤维束。肌动蛋白通过一系列细胞内锚定蛋白附着在细胞膜上，锚定蛋白包括连环蛋白（catenin）、黏着斑蛋白（vinculin）和 α-辅肌动蛋白（α-actinin），这些蛋白质我们将在后面介绍。于是，相邻细胞中的肌动蛋白丝通过钙黏蛋白和附着蛋白形成一个广泛的跨细胞网络（图 19-9）。这个网络在肌球动力蛋白帮助下，可以收缩（在第 16 章讨论），一般认为这在动物形态发生中起着重要的作用，如上皮细胞板折叠成神经管等相关结构（图 19-10）。

在上皮细胞之间的紧密连接的组装似乎要求先形成黏着连接。例如，阻止黏着连接形成的抗钙黏蛋白抗体也能阻止紧密连接的形成。

细胞间中间纤维相连的桥粒连接

桥粒在两个细胞之间形成纽扣状的结构，将相邻细胞锚连在一起［图 19-11（A）］。在细胞内，桥粒也是绳状中间纤维的锚定位点，中间纤维形成一个抗张力的结构框架［图 19-11（B）］。相邻细胞的中间纤维通过桥粒相互连接，形成贯穿组织许多细胞的整体网络。与桥粒相连的中间纤维的种类依不同细胞类型而不同：上皮细胞中为角蛋白纤维（keratin filament），心肌细胞中为结蛋白纤维（desmin filament）。

桥粒的一般结构见图 19-11（C），形成桥粒的一些蛋白质在图 19-11（D）中显示。这种连接有致密的细胞质斑，由细胞内锚定蛋白桥粒斑珠蛋白（plakoglobin）和桥粒斑蛋白（desmoplakin）组成，这两种蛋白质把细胞质骨架与跨膜连接蛋白相连。这些连接蛋白和黏着连接中的蛋白质一样，都属于钙黏蛋白家族。它们通过细胞外部分的相互作用，把相邻细胞的质膜连接在一起。

桥粒连接是非常重要的。如果桥粒连接不能正常形成，可以导致潜在的致命皮肤病天疱疮（pemphigus）。犯病的个体产生一种桥粒钙黏蛋白的抗体，这些抗体破坏桥粒的形成，导致体液渗入疏松的上皮层，皮肤严重起泡。

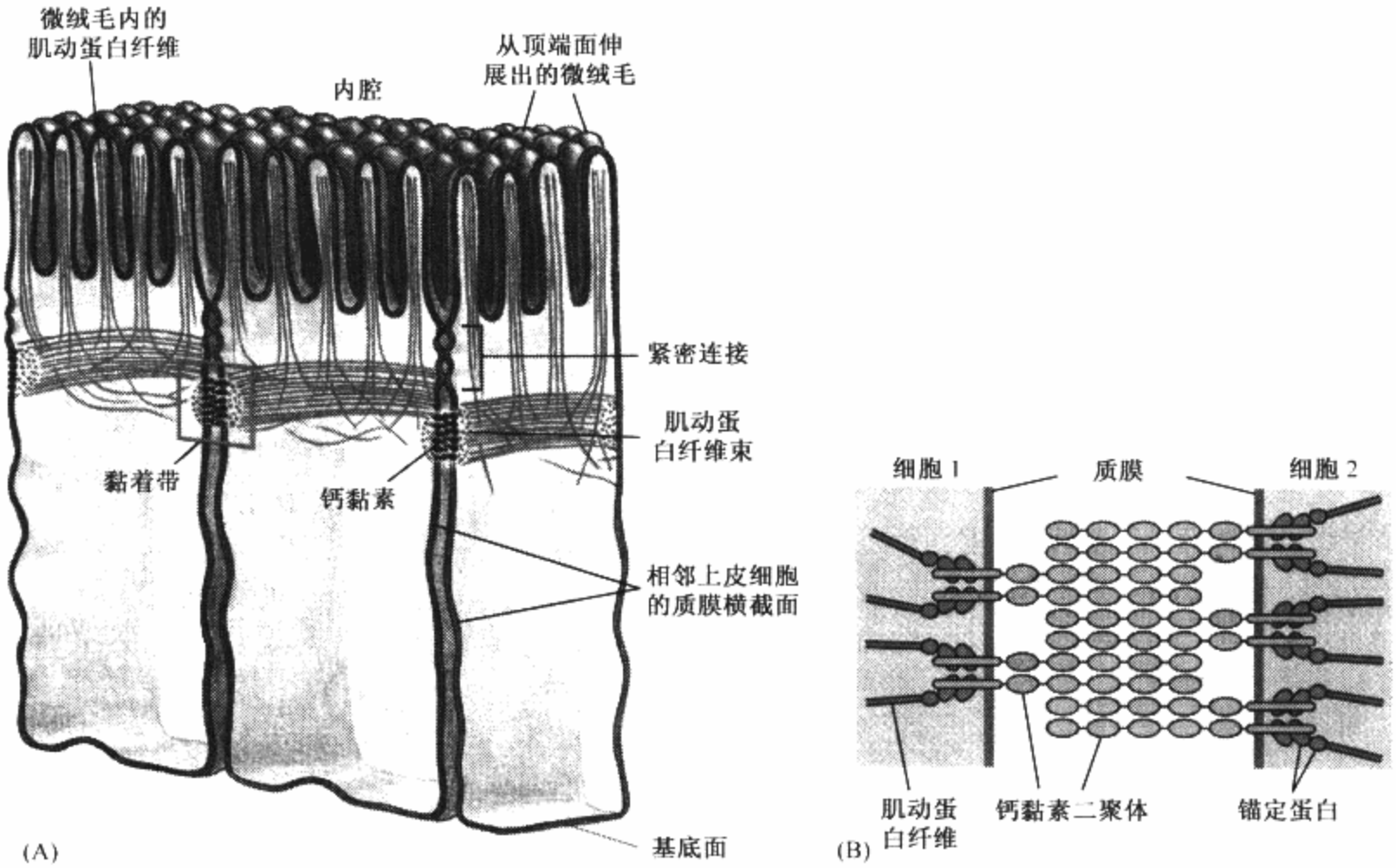


图 19-9　黏着连接

（A）在小肠上皮细胞中，黏着带形式的黏着连接。相互作用的细胞环绕着带状的连接，它最明显的特征是肌动蛋白丝束的可收缩性。（B）形成黏着连接的一些分子。肌动蛋白丝由被称为钙黏蛋白的跨膜连接蛋白连接在一起。钙黏蛋白在细胞质膜内形成同源二聚体，二聚体细胞外的结构域与相邻细胞内的钙黏蛋白二聚体的细胞外结构域结合。细胞内钙黏蛋白的尾通过锚定蛋白与肌动蛋白纤维相连。这些锚定蛋白包括 α-连环蛋白、β-连环蛋白、γ-连环蛋白、α-辅肌动蛋白和黏着斑蛋白

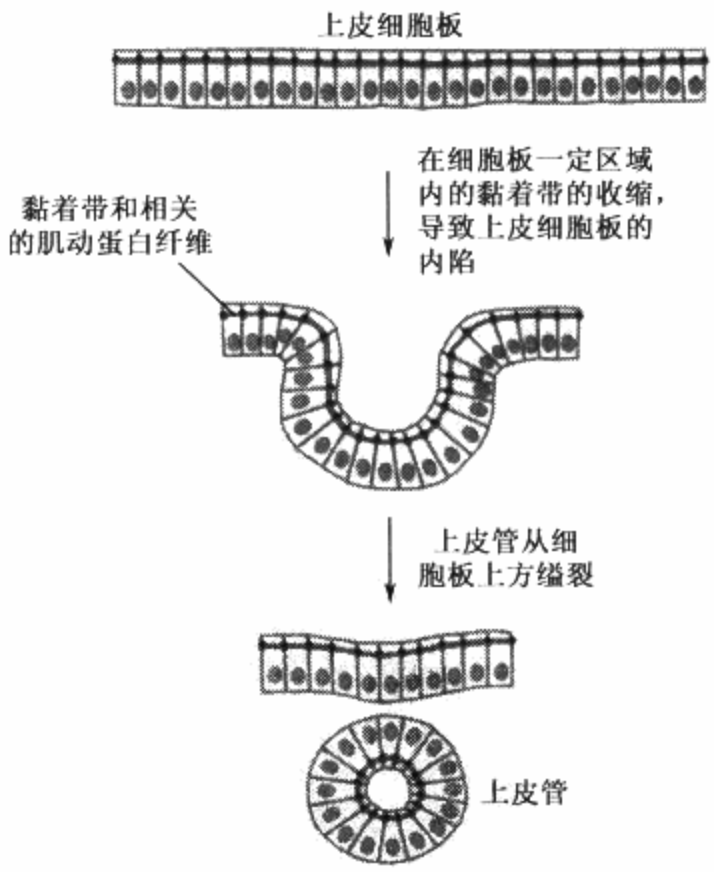


图 19-10　上皮细胞板折叠形成上皮细胞管

肌动蛋白丝束沿黏着带定向收缩，导致上皮细胞在其顶端变窄，帮助细胞板卷起形成管，如脊椎动物发育早期神经管的形成（在第 21 章讨论）。在这个过程中，上皮细胞板内细胞的重排被认为也起重要作用，这里没有显示出来

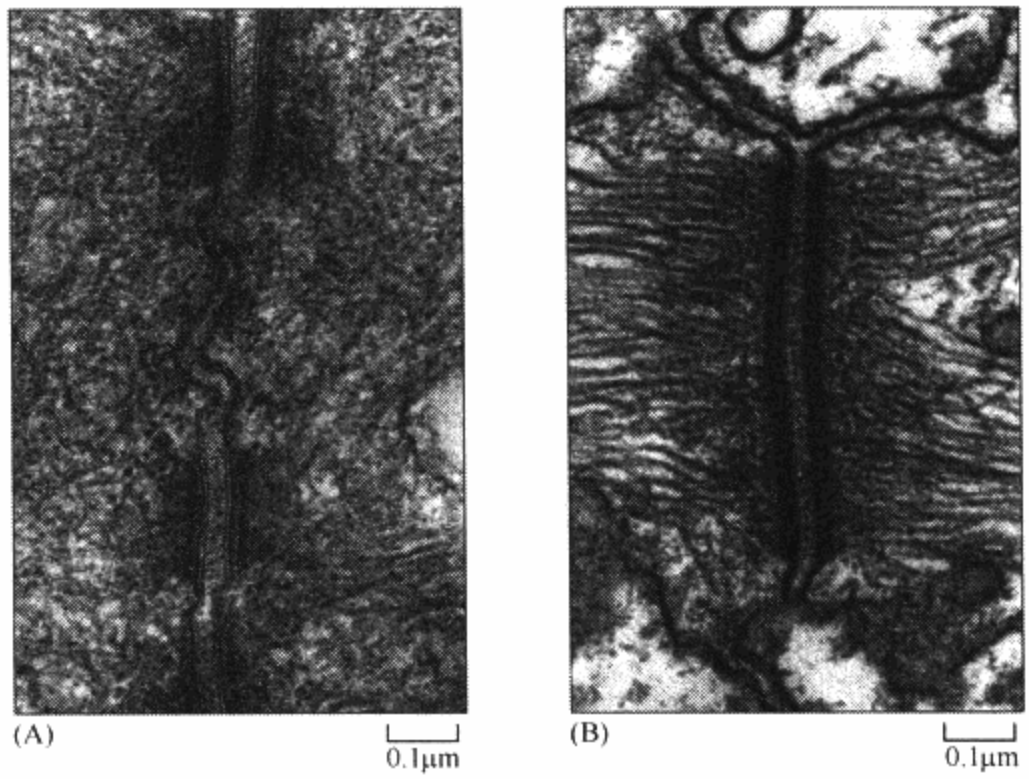


图 19-11　桥粒

(A) 老鼠小肠上皮细胞间三个桥粒的电镜照片。(B) 发育中的蝾螈上皮细胞间的单个桥粒的电镜照片，清晰地显示了中间纤维的附着。(C) 桥粒结构组分。在细胞质面是由细胞内锚定蛋白形成的致密斑。一束角质蛋白中间纤维附着在致密斑表面，钙黏蛋白家族的跨膜连接蛋白绑定在致密斑上，再通过细胞外结构域的相互作用，把相邻细胞的质膜维持在一起，通过一种依赖 Ca^{2+} 的机制。(D) 桥粒的分子组分。Desmoglein 和 desmocollin 都是钙黏蛋白家族的成员，在细胞质的尾结合在桥粒斑珠蛋白（γ-连环蛋白）上 [(A) 摘自 N. B. Gilula, in Cell Communication [R. P. Cox, ed.], pp. 1～29. New York: Wiley, 1974. Reprinted by permission of John Wiley & Sons, Inc.; (B) 摘自 D. E. Kelly, *J. Cell Biol.* 28: 51～59, 1966. © The Rockefeller University Press]

整联蛋白把细胞与细胞外基质相连形成的锚定连接：黏着斑和半桥粒

一些锚定连接把细胞与细胞外基质，而不是与其他细胞相连。在这些细胞-基质连接中，跨膜连接蛋白是整联蛋白（integrin），这是一类与钙黏蛋白不同的蛋白质大家族。**黏着斑（focal adhesion）**通过整联蛋白使细胞内肌动蛋白与细胞外基质连接起来。例如，肌肉细胞以这种方式，把它们的腱与肌腱连接（myotendinous junction）相连。同样，人工培养的成纤维细胞可以在覆盖有细胞外基质分子的人造基底层上迁移，也是通过肌动蛋白丝束末端的黏着斑附着在基底层上。所有的这类连接，跨膜整联蛋白细胞外结构域都与细胞外基质的一种蛋白质组分相连，而它们细胞内结构域，则通过细胞内锚定蛋白（α-辅肌动蛋白、黏着斑蛋白）与肌动蛋白丝束间接地相连［图 19-12（B）］。

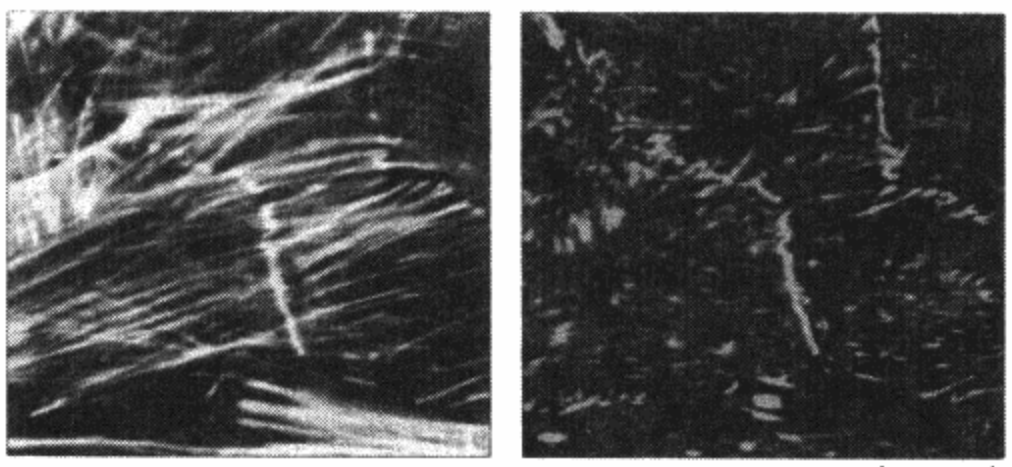


图 19-12　黏着斑

（A）在免疫荧光显微照片中，培养的细胞用肌动蛋白（绿色）的抗体和细胞内的锚定蛋白黏着斑蛋白（红色）的抗体分别标记。注意黏着斑蛋白定位在黏着斑处，黏着斑也是肌动蛋白丝束在细胞质膜终止的地方。（B）形成黏着斑的一些蛋白质。跨膜连接蛋白是整联蛋白异二聚体，由α亚基和β亚基组成。其细胞外结构域于细胞外基质组分结合，β亚基细胞内的部分通过几种细胞内锚定蛋白与肌动蛋白纤维间接相连［（A）摘自 B. Geiger，E. Schmid，and W. Franke，*Differentiation* 23：189～205，1983］

半桥粒（hemidesmosome or half-desmosome），在形态上和与中间纤维连接上与桥粒相似。和桥粒一样，它们都是通过上皮细胞承担张力和机械剪力的铆钉。半桥粒把上皮细胞底部与基底层（basal lamina）相连（图 19-13）。介导这个连接的整联蛋白的细胞外结构域与基底层的一种薄层蛋白（在后面讨论）相连，而细胞内结构域通过锚定蛋白 plectin 与角质中间纤维相连。然而，与桥粒相连的角质中间纤维与桥粒板横向连接［图 19-11（C）和（D）］，与半桥粒相连的角质中间纤维则终止在半桥粒致密斑内（图 19-13）。

虽然各种锚定连接的术语容易混淆，但是分子原理（至少对脊椎动物来说）则相对简单（表 19-2）。细胞质膜中的整联蛋白把细胞锚定在细胞外基质分子上；细胞质膜中的钙黏蛋白家族成员把细胞锚定在与之相邻的细胞上。两种情况下，这里都有与细胞质骨架纤维的连接，或者是肌动蛋白纤维，或者是中间纤维，依细胞内锚定蛋白的种类而定。

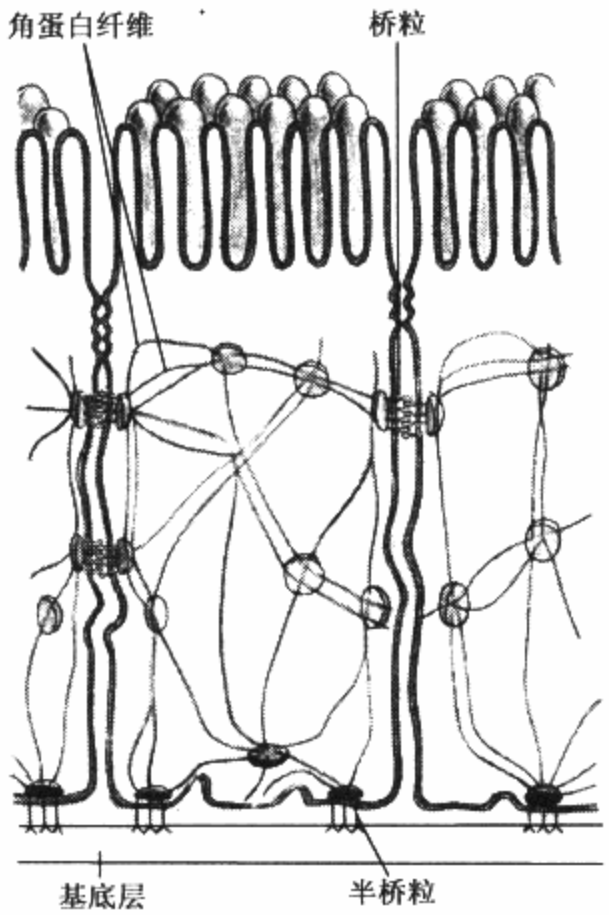


图 19-13　桥粒和半桥粒

小肠上皮细胞中桥粒和半桥粒的分布。细胞中角质中间纤维形成的网络通过桥粒彼此相连，或者通过半桥粒与基底膜连接

表 19-2　锚定连接

连接名称	跨膜连接蛋白	细胞外配体	结合细胞内骨架类型	细胞内锚定蛋白
细胞-细胞间				
黏着带	钙黏素（E-钙黏素）	相邻细胞中钙黏素	肌动蛋白纤维	α和β连环蛋白，黏着斑蛋白，α-辅肌动蛋白，桥粒斑珠蛋白（γ-连环蛋白）
桥粒	钙黏素（桥粒黏着蛋白，桥粒胶蛋白）	相邻细胞中的桥粒黏着蛋白和桥粒胶蛋白	中间纤维	桥粒斑蛋白，桥粒斑珠蛋白（γ-连环蛋白）
细胞-基质间				
黏着斑	整联蛋白	细胞外基质蛋白	肌动蛋白纤维	踝蛋白，黏着斑蛋白，α-辅肌动蛋白，细丝蛋白
半桥粒	整联蛋白$\alpha_6\beta_4$，BP180	细胞外基质蛋白	中间纤维	网格蛋白，BP230

间隙连接允许小分子直接在细胞间传递

除了一些未分化的细胞，如骨骼肌细胞和血细胞外，动物组织中许多细胞都通过**间隙连接（gap junction）**与相邻细胞进行联系。在传统电子显微镜下，每个间隙连接像一个斑点，在这里两个相邻细胞之间有 2～4nm 的缝隙。通道形成蛋白（连接蛋白，connexin）横跨这些缝隙。连接蛋白形成的通道（连接子，connexon）允许无机离子和水溶性小分子直接从一个细胞的细胞质传递到另一个细胞的细胞质，因此可以使细胞间进行电耦联和代谢偶联。染料注射实验揭示，连接通道的最大功能孔径约为 1.5nm，暗示着偶联的细胞可以共享它们的小分子物质（如无机离子、蔗糖、氨基酸、核苷酸、维生素和细胞内信使

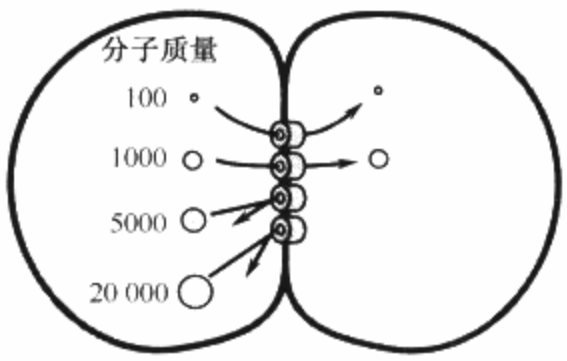


图 19-14　间隙连接通道大小的确定
荧光标记的各种大小的分子，注射到通过间隙连接偶联起来的两个细胞中的一个，分子质量小于 1000Da 的分子可以运输到另一个细胞，但是更大的分子则不能

cAMP），但是却不能共享它们的大分子（蛋白质、核酸和多糖）（图 19-14）。细胞偶联有很重要的作用，有些我们只是刚刚开始了解。

有许多实验为间隙连接介导细胞偶联提供了证据，例如，当联结子蛋白的 mRNA 注射到青蛙卵母细胞，或者是间隙连接缺陷的培养细胞中，在成对细胞接触的地方，用电生理学的方法可以证明具有间隙连接的性质。

mRNA 注射的方法在鉴定新的间隙连接蛋白中是有用的。在果蝇的基因研究中，鉴定了基因 *shaking B*。该基因发生突变，会导致果蝇对视觉刺激反应的失败。虽然这些果蝇具有缺陷的间隙连接，shaking B 蛋白的序列与连接蛋白的并不相似，并且这个蛋白质的功能还不清楚。然而，往青蛙卵母细胞中注射 *shaking B* mRNA，导致功能性的间隙连接的形成，就像有连接蛋白形成的间隙连接一样。因此，shaking B 蛋白成为无脊椎动物中被称为连接蛋白的间隙连接蛋白家族（一个新的蛋白家族）中的第一个成员。在果蝇中有多于 15 种的连接蛋白基因，在秀丽新小杆线虫中有 25 种。

一个间隙连接由 6 个跨膜连接蛋白亚基组成

连接蛋白是 4 次跨膜蛋白，6 个连接蛋白组成一个通道，即**连接子（connexon）**。当位于两个接触的细胞质膜中的连接子对接起来，就形成了一个连接两个细胞内部的亲水性通道［图 19-15（A）］。连接子使相互作用的质膜之间具有特定的距离。

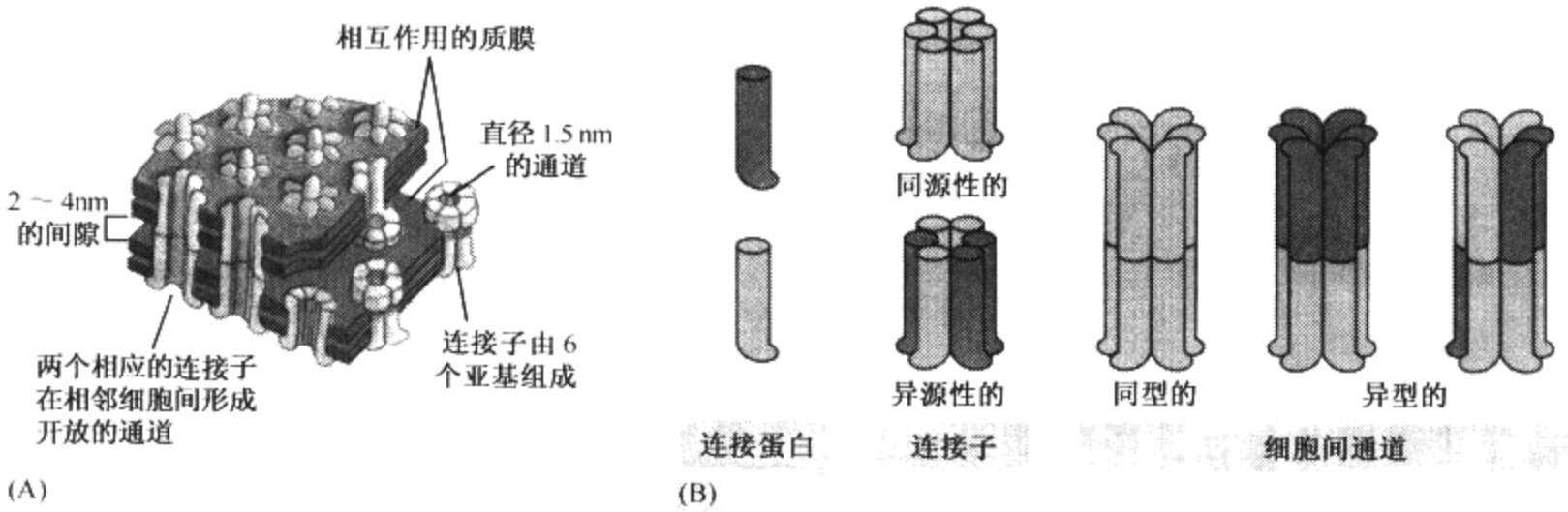


图 19-15　间隙连接
（A）三维图像显示两个相邻细胞相互作用的细胞膜，通过间隙连接连接在一起。并排的脂双层（红色）被连接子（绿色）贯穿，每个连接子由 6 个连接蛋白亚基组成。两个连接子穿过细胞间隙连接起来，形成连接两个细胞的亲水通道。（B）连接蛋白组织成连接子，连接子组成细胞间通道。连接子可以是同源嵌合体，也可以是异源嵌合体，细胞间通道可以是同型的，也可以是异型的

不同组织中的间隙连接具有不同的性质。单个通道的渗透性，根据形成连接的连接蛋白的不同而改变。例如，在人类中，有由不同的基因编码的 14 种不同的连接蛋白，每种蛋白质具有不同的，有时是重叠的组织分配。大部分细胞表达超过一种类型的连接蛋白。两种不同的连接蛋白可以形成异源连接子，异源连接子与仅仅由同一种连接蛋白形成的同源连接子具

有不同的性质。此外，相邻细胞表达不同的连接蛋白，可以形成具有两个不同半通道的细胞间通道［图 19-15（B)］。每个间隙连接包括几个到数千个的连接子［图 19-16（B)］。

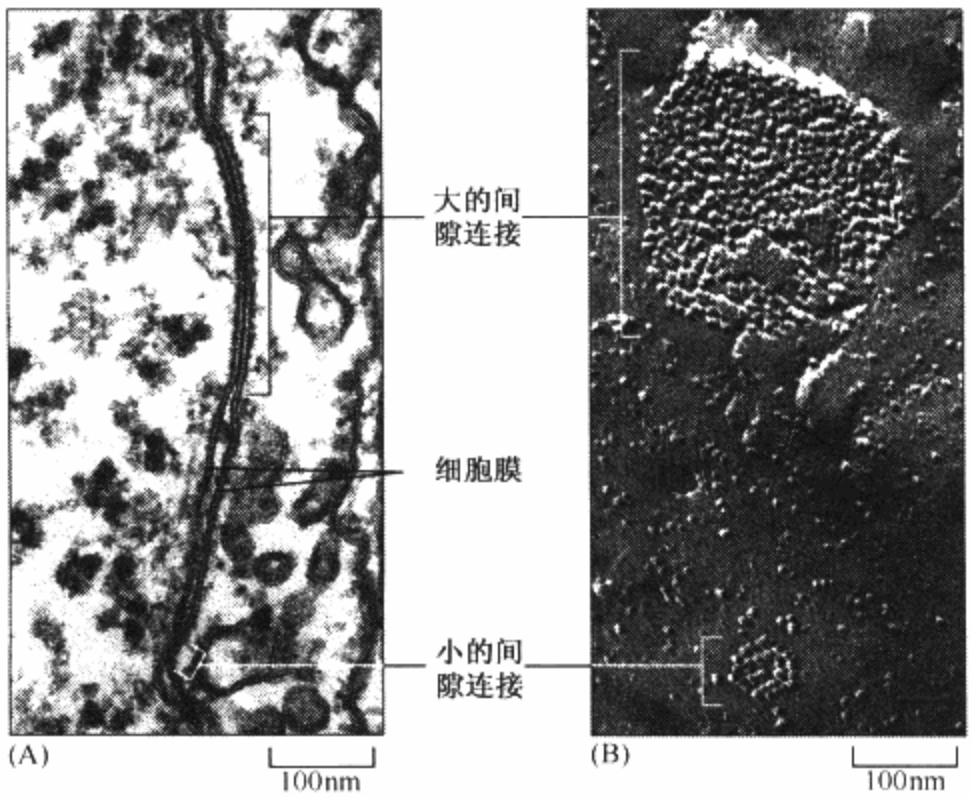


图 19-16　电子显微镜观察的间隙连接

（A）培养的成纤维细胞的薄截面。（B）冷冻蚀刻电镜图片。在（B）中，可以看到每个间隙连接是一簇同源跨膜微粒与细胞质断裂面（p 面）相结合。每个跨膜微粒对应于一个连接子［摘自 N. B. Gilula，in Cell Communication (R. P. Cox，ed.)，pp. 1～29. New York：Wiley，1974. Reprinted by permission of John Wiley & Sons，Inc］

间隙连接具有多种功能

在包含电兴奋细胞的组织中，细胞通过间隙连接偶联，发挥着重要作用。例如，神经细胞之间的电耦联，允许动作电位迅速地从一个细胞传递到另一个细胞，而没有化学突触传递中的延迟。当速度和可靠性很重要时，如在鱼和昆虫中的逃跑反应中，这是很有利的。同样，在脊椎动物中，通过间隙连接的电耦联，使心肌细胞的收缩与平滑肌细胞的收缩在小肠的蠕动中保持一致。

间隙连接也发生在许多不包含电兴奋细胞的组织中。原则上，在这些组织中，细胞通过间隙连接共享代谢分子和离子，使单个细胞之间的行动协调一致，并且使不同细胞中小分子物质浓度趋向一致。例如，在肝脏中，作为对血液中葡萄糖浓度降低的应答，去甲肾上腺素从交感神经末端的释放，刺激肝细胞增加糖原的降解，从而释放葡萄糖到血液中去。然而，并不是所有的肝细胞都受交感神经的支配。通过肝细胞间的间隙连接，信号从受交感神经支配的细胞传递到那些不受交感神经细胞支配的细胞中。因此，肝脏中主要连接蛋白基因突变的小鼠，当血液中葡萄糖水平降低时，将不能正常动员糖原的降解。

卵泡的正常发育也依赖于间隙连接介导的通讯，这种情况下，间隙连接发生在卵母细胞和周围粒细胞之间。编码连接蛋白基因的突变，将导致不育（图 19-17)。

通过间隙连接进行的细胞偶联，在胚胎发育中也很重要。在脊椎动物早期晶状胚，小鼠 8 细胞胚胎晚期，大部分细胞开始彼此之间建立电耦联。当细胞开始分化，在胚胎中形成特

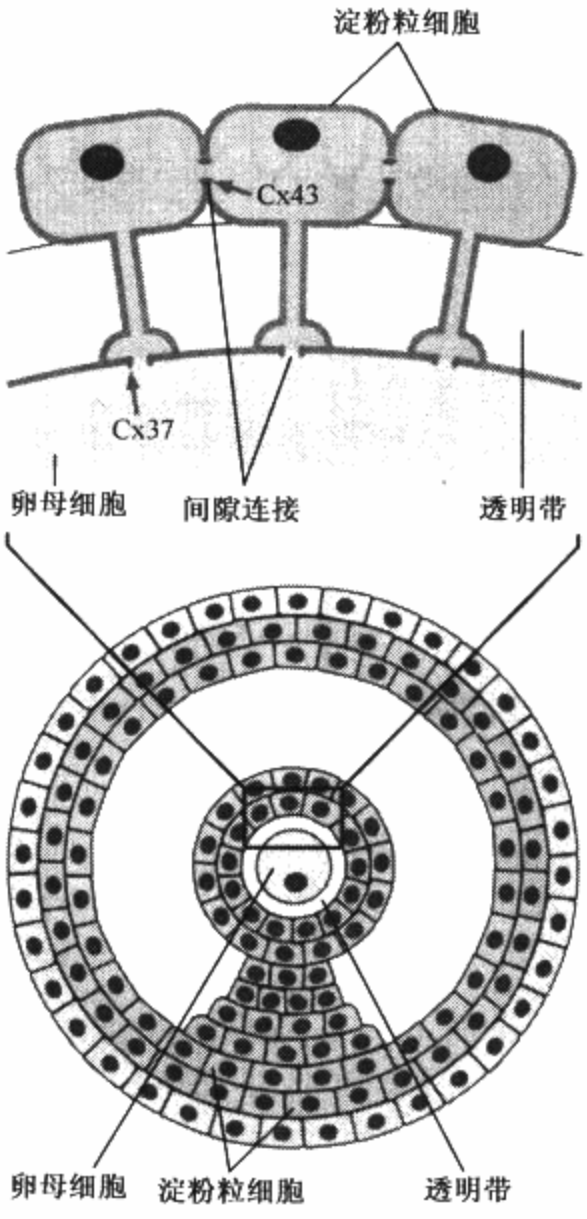


图 19-17　间隙连接在卵泡中耦合

T 卵母细胞由一厚层被称为透明带（在第 20 章讨论）的细胞基质包围。周围的粒细胞通过由连接子 43（connexin 43，Cx43）组成的间隙连接偶联在一起，另外，粒细胞穿过透明带扩展开来，并与卵母细胞建立间隙连接，这些间隙连接包含了不同的连接子（Cx37），如果编码 Cx37 的基因突变，就破坏了粒细胞和卵母细胞的发育，从而导致败育

化的细胞群，它们与周围组织不再耦联。例如，当神经板折叠形成神经管，这些细胞就不再和外胚层细胞耦联（图 19-10）。其间，在每组细胞群中的细胞，都按照一种相似的发育途径，彼此之间还在耦联，因此可以作为协作的集合运转。

间隙连接的通透性可以调节

和常规的离子通道（在第 11 章讨论）一样，单个的间隙连接并不总是处于开的状态，而是开与关的状态间转换。此外，间隙连接的通透性可以迅速（数秒钟内）地、可逆地降低，通过降低细胞质 pH 或者增加细胞质中 Ca^{2+} 浓度到很高的水平。因此，间隙连接通道是动态的结构，可以对细胞内的改变做出反应，发生可逆的构型改变以关闭通道。

间隙连接的通透性通过 pH 调节的意义还不清楚。然而，在一种情况下，Ca^{2+} 控制的目的似乎比较清楚。当细胞被破坏，它的细胞质膜变得渗漏，细胞外液中高浓度的离子，如 Ca^{2+} 和 Na^{+}，就运动到细胞中，而有价值的代谢物泄露出去。如果这个细胞还和正常的细胞偶联，这些正常的细胞将也会由于它们内部的化学组成受到危险的干扰。但是，大量的 Ca^{2+} 流入受损的细胞，会导致间隙连接的快速关闭，使该细胞隔离起来，阻止损害扩散到其他细胞。

间隙连接通讯也可以受到细胞外信号的调节。例如，神经传递素多巴胺（dopamine），可以对增大的光强度做出反应，降低视网膜上一类神经细胞间的间隙连接通讯（图 19-18）。间隙连接通透性的降低，有助于视网膜从利用视杆细胞转变到利用视锥细胞。视杆细胞便于接受弱光，而视锥细胞便于在强光下识别颜色和其他细节。

图 19-19 总结了在脊椎动物上皮细胞中各种不同的间隙连接。几乎所有的脊椎动物上皮细胞中的连接的相对位置是一样的，在大部分细胞的顶部。紧密连接占了细胞顶部的大部分位置。紧密连接下面是黏着连接（黏着带），然后是平行排列的桥粒，所有这些连接一起形成被称为连接复合物（junctional complex）的结构。间隙连接和桥粒的组织较不规则。

在植物中，胞间连丝有着和间隙连接一样的功能

植物组织和动物组织是按照不同的规则组织起来的。这是因为植物细胞周围有坚硬的细胞壁（cell wall），细胞壁由富含纤维素和其他多聚糖的细胞外基质组成，我们在后面会进行讨论。相邻细胞之间的细胞壁紧密地结合在一起，这样就不再需要锚定连接。但是，细胞间的直接通讯连接还是需要的。因此，植物细胞只有一种细胞间连接，即**胞间连丝（plas-**

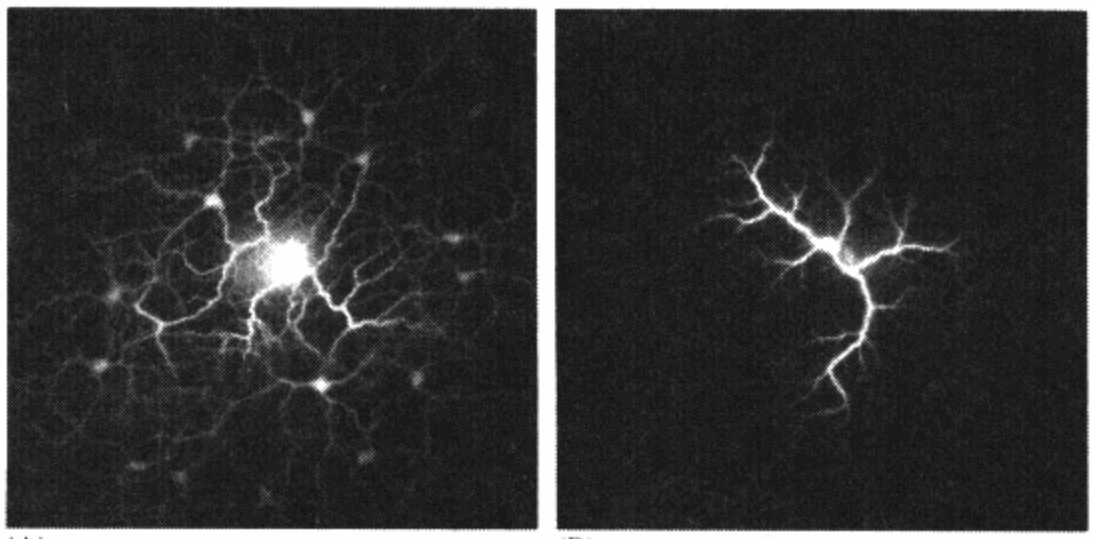
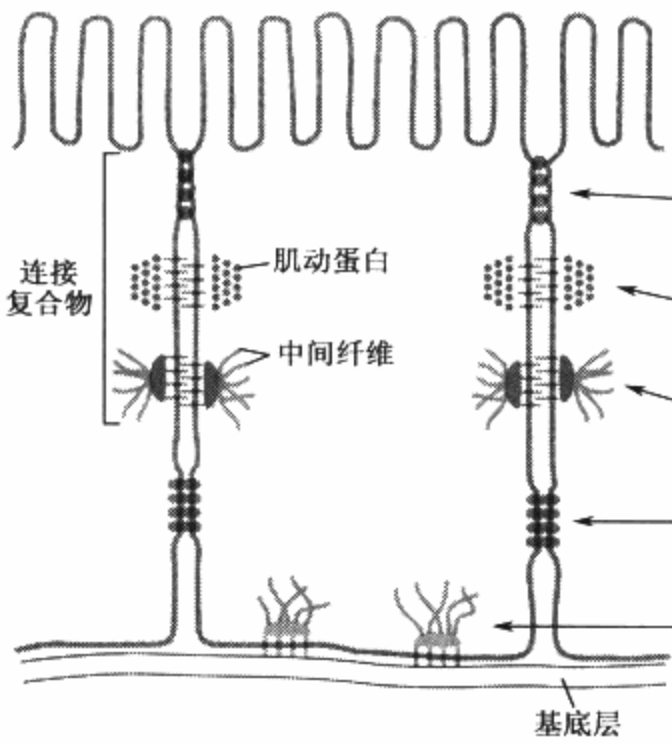


图 19-18　与神经传递素偶联的间隙连接的调节

（A）用荧光黄注射兔子视网膜上神经元，荧光黄很容易地通过间隙连接，去标记与此神经元通过间隙连接相连的同类神经元。（B）在注射荧光黄之前，视网膜用多巴胺处理。我们可以看到，多巴胺处理极大地降低了间隙连接的通透性。多巴胺通过提高细胞内的 cAMP 浓度来发挥作用（经 David Vaney 许可）



名称	功能
紧密连接	通过上皮细胞板将相邻细胞缝合在一起，防止分子在细胞间渗漏
黏着带	将一个细胞中的肌动蛋白丝与相邻细胞中相似的肌动蛋白丝连接起来
桥粒	把细胞与相邻细胞中的中间纤维连接起来
间隙连接	允许细胞水溶性离子和分子通过
半桥粒	把细胞中的中间纤维丝锚定在基底层上

图 19-19　脊椎动物上皮组织中各种连接的总结

该图是基于细胞小肠上皮细胞的

modesmata）。和间隙连接一样，它们直接相连相邻细胞之间的细胞质。

然而在植物中，相邻细胞间典型的细胞壁至少有 0.1μm 厚，因此通过细胞壁介导通讯需要非常不同的结构。胞间连丝解决了这个问题。除了一些特殊的例子外，在高等植物中，每个活的细胞都通过胞间连丝与它的相邻细胞相连，形成精巧的细胞质通道。如图 19-20（A）所示，在每个胞间连丝处，一个细胞的质膜与其相邻细胞的质膜是连续的，并且这两个细胞的细胞质通过一个直径 20～40nm 的近似圆柱状的通道相连。因此，植物细胞可以看作是多核体的，许多细胞核共享相同的细胞质。

在大多数胞间连丝中间通过的是一个更窄的圆柱状结构，既连丝小管（desmotubule），它由滑面内质网特化而来，并与之相连［图 19-20（B），图 19-21（A）和（B）］。在连丝小管外面和圆柱通道内面之间，细胞质膜形成了一个胞质环面，小分子可以从一个细胞到另一个细胞。每个细胞的新细胞壁，是在细胞分裂中组织起来的，胞间连丝在细胞壁中形成。它们

在滑面内质网周围形成，滑面内质网在细胞板形成处被截留（在第 18 章讨论）。它们也从已经形成的细胞壁插入，在这里通常是密集地簇集成凹陷区域（pit field）［图 19-21（C）］。当不再需要时，胞间连丝可以轻易地去除。

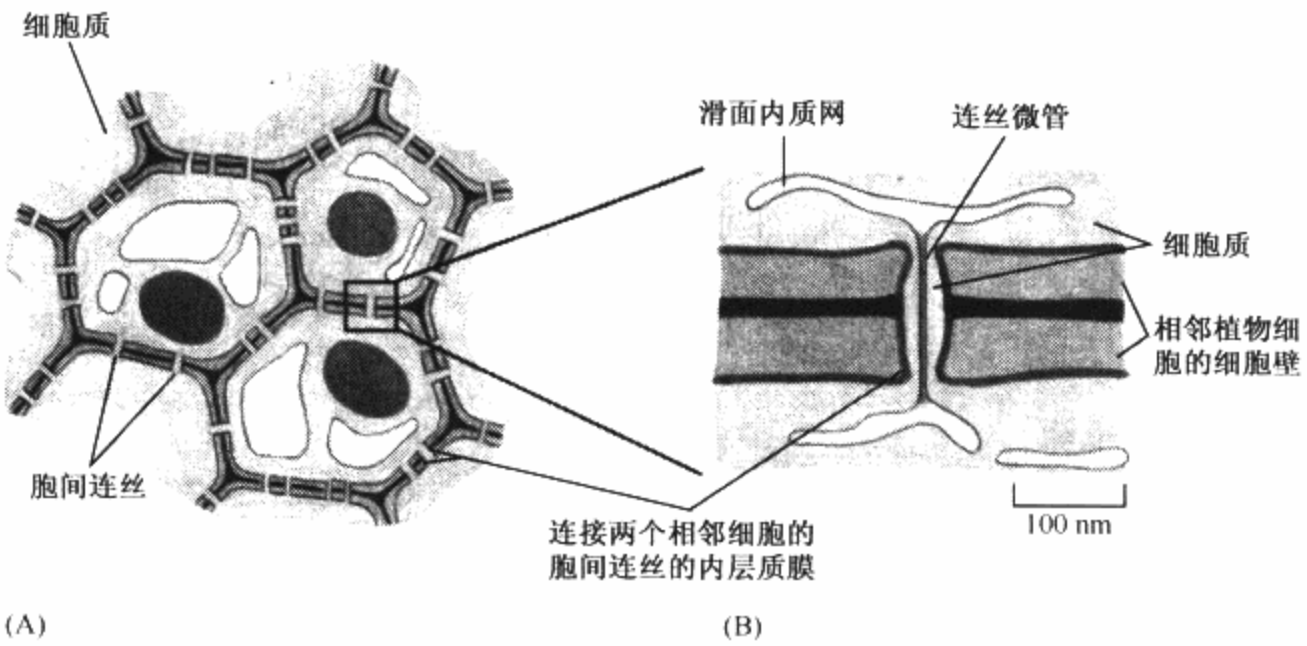


图 19-20　胞间连丝

（A）胞间连丝的细胞质通道穿透细胞壁，把植物中所有细胞连接起来。（B）每个胞间连丝都顺着质膜排列。它通常还包括一个细的管状结构——连丝微管（desmotubule），它是由滑面内质网衍生而来

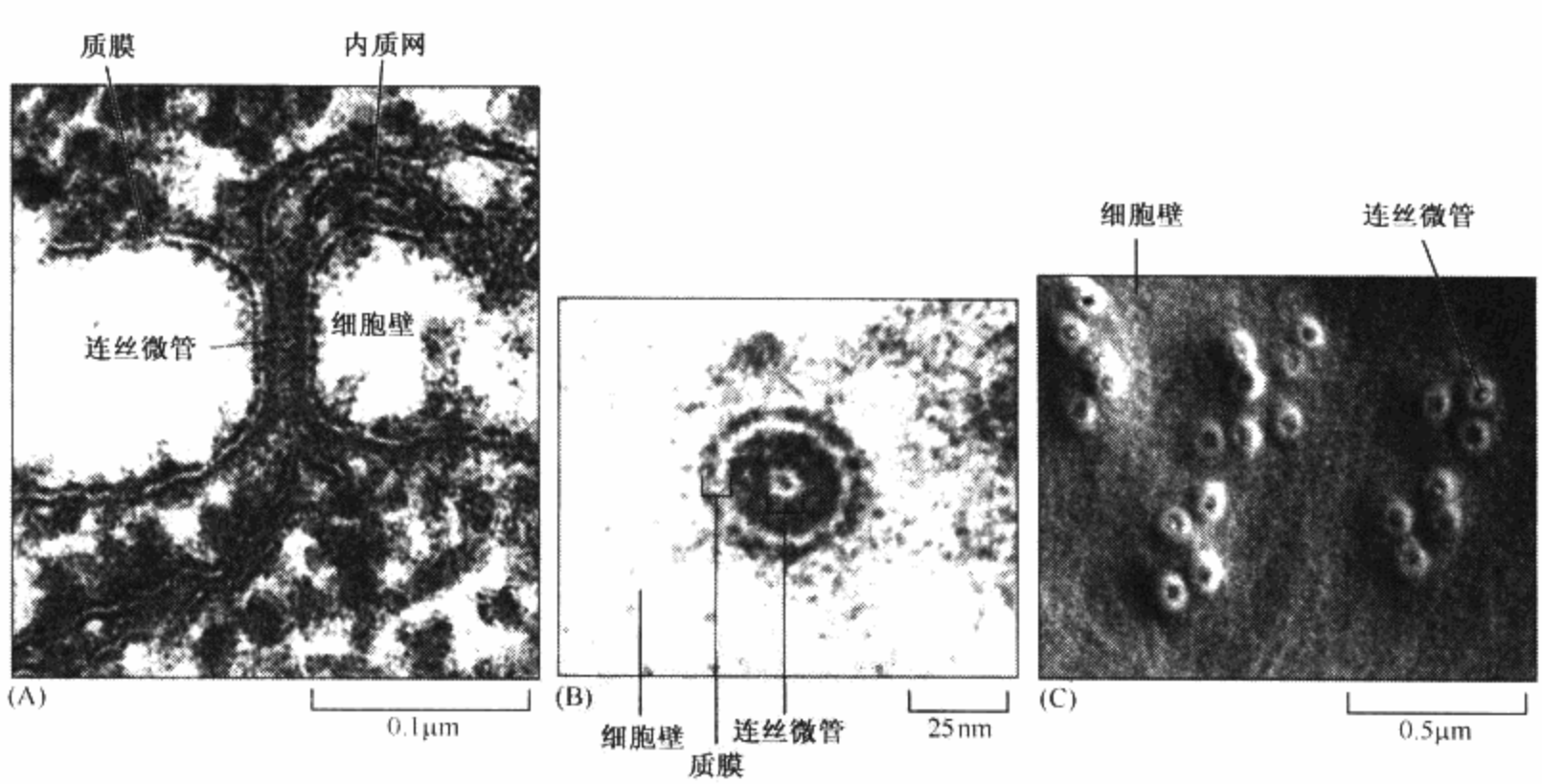


图 19-21　各种胞间连丝观察图

（A）一种蕨类植物胞间连丝的纵截面电镜照片。可以看到内质网和它与连丝微管的连接。（B）相似的胞间连丝横截面。（C）从烟草叶片中分离的细胞的细胞壁中的凹陷区域。在这个扫描电镜照片中，可以看到在它们的表面上有许多连丝微管结构［（A）和（B）摘自 R. Overall，J. Wolfe and B. E. S. Gunning，in Protoplasm 9，pp. 137 and 140. Heidelberg：Springer-Verlag，1982；（C）经 Kim Findlay 许可］

不管胞间连丝和间隙连接在结构上有怎样的差别，它们的功能却非常的相似。从注射不同大小的示踪分子获得的证据表明，胞间连丝允许分子质量小于 800Da 的分子通过，这

和间隙连接允许通过的分子质量相似。和间隙连接一样，通过胞间连丝的运输也受调节。例如，染色注射实验表明，在某些细胞间，或者某些细胞群间，对于小分子质量分子也是有屏障的，虽然这些细胞之间有正常的胞间连丝，这些情况下，细胞间通讯受限制的机制现在还不清楚。

植物发育过程中，在茎端和根部分生组织中的细胞彼此传递分化的信号，决定细胞未来的命运（在第 21 章讨论）。在细胞决定细胞命运的过程中，一些参与基因调节的蛋白质通过胞间连丝从一个细胞转运到另一个细胞。它们和胞间连丝的组分结合，可以不受分子质量排除机制的限制。在某些情况下，编码这类蛋白质的 mRNA 也可以从中通过。一些植物病毒也利用这个途径：传染性病毒 RNA，甚至是完整的病毒，可以通过这个途径经过一个细胞到另一个细胞。这些病毒可以产生一些结合在胞间连丝组分上的蛋白质，显著增加通道的有效通透直径。因为胞间连丝的功能组分还不清楚，所以，内在大分子或病毒大分子是怎样调节通道的特性以及从中通过目前还不清楚。

小结

组织中的很多细胞，都是在被称为细胞连接的特化连接位点处彼此相连或者与细胞外基质相连的。细胞连接按功能可以分为三类：封闭连接、锚定连接和通讯连接。紧密连接就是封闭连接，它在维持上皮细胞层两边的亲水小分子的浓度差中起重要作用。它们以两种方式发挥功能：第一，它们把相邻细胞的质膜密封在一起，形成一个连续的屏障，这个屏障可以是不通透的，也可是半通透的，来阻止通过细胞层的扩散；第二，它们作为脂双层中的屏障，限制转运蛋白在细胞顶部和底部之间扩散。间壁连接是无脊椎动物中的封闭连接。

在脊椎动物组织中，锚定连接的主要类型是黏着连接、桥粒、黏着斑和半桥粒。黏着连接和桥粒把细胞连接在一起，由钙黏蛋白形成；而黏着斑和半桥粒把细胞和细胞外基质相连，由整联蛋白形成。黏着连接和黏着斑是肌动蛋白纤维束连接的位点，而桥粒和半桥粒是中间纤维丝连接的位点。

间隙连接是通讯连接，由簇生的联结子组成，联结子可以允许分子质量小于 1000Da 的分子直接通过。通过间隙连接相连的细胞，共享许多无机离子和其他小分子，因此是电耦联和化学耦联的。在电兴奋细胞行动的协调中，间隙连接是很重要的，并且在其他细胞群中，也起同样重要的作用。胞间连丝是植物细胞间唯一的连接。虽然它们的结构是完全不同的，但它们有时也可以转运大的信号分子，总的来说，它们和间隙连接的功能相似。

细胞间黏着

为了形成锚定连接，细胞首先必须黏着；然后必须在直接介导黏着的分子周围形成大量的细胞骨架装置。结果就是我们已经详细介绍过的——桥粒、半桥粒、黏着斑或者黏着连接，它们在电镜下都很容易识别。实际上，电镜方法是细胞连接分类的基础。然而，在细胞质骨架组装之前的细胞连接形成早期，细胞经常黏附在一起，而没有细胞连接的特征结构。在电镜下，可能仅仅看到两个细胞质膜被特定宽度的缝隙隔开。不过，功能检测表明这两个细胞是黏附在一起的，并且生化分析可以显示出负责细胞黏着的分子。

细胞连接与细胞黏着的研究曾经是截然不同的，它们起源于两种不同的实验方法——细胞连接通过电镜描述，细胞黏着通过功能检测和生化检测来描述。只是在最近几年，两种研究方式才开始聚焦于细胞连接和细胞黏着的分子基础。在上一部分，我们重点介绍了成熟细

胞的连接结构。在这一部分，我们将转向在成熟细胞-细胞锚定连接形成之前的细胞黏着机制（它决定了细胞何时越过其他细胞进行迁移和这些细胞何时装配成组织）的功能和生化研究。我们从胚胎发育的一个重要问题开始介绍：是什么机制来确保细胞在正确的时间与合适的相邻细胞附着？

动物细胞在原地或者迁移之后可以形成组织

在许多简单组织（包括大部分上皮组织）中，为了防止组成这些组织的细胞脱离恰当的位置，组织细胞就与细胞外基质，或与其他细胞，或与两者附着（图 19-22）。但是不断增殖的细胞不是简单地附着在一起，而是选择性地黏着并不断调整，从而产生组织的结构。

选择性黏着对较为复杂来源，包括细胞迁移的组织发育更为重要。在这些组织中，一个细胞群侵袭另一个细胞群并和它装配，也可能和其他迁移细胞装配，形成一个有序的结构。例如，在脊椎动物胚胎中，来自神经嵴的细胞脱离上皮细胞神经管，沿着特定的路径迁移到许多其他组织中（在第 21 章讨论）。在那里它们也与其他细胞装配，并且分化成多种组织，包括上皮神经系统（图 19-23）。

细胞运动和细胞黏着一起导致了这些形态的发生。这个过程需要一些指导细胞向着其目的地分化的机制。这可能包括趋化性（chemotaxis）或者离化性（chemorepulsion）（分泌的可溶性化学物质分别吸引或者排斥迁移细胞）或者路径指引（pathway guidance），即在细胞外基质或者细胞表面下面胶连或者排斥分子指引迁移细胞沿着正确的途径迁移。然后，一旦迁移细胞到达其目的地，它就会识别和联合其他合适类型的细胞装配成组织。为了研究后面这个过程是如何发生的，可以通过把不同胚胎组织的细胞人工地混合在一起，随后，这些不同的细胞经常自发地分离出来而进行规则地排列，这我们将在下面讨论。

解离的脊椎动物细胞可以通过选择性细胞黏着重新装配成组织

不像脊椎动物成年组织，脊椎动物胚胎组织容易解离。经常用低浓度的蛋白水解酶，如胰岛素，有时结合使用二价离子螯合剂（如 EDTA）来处理这些组织。这些试剂破坏蛋白质之间的相互作用（许多都是依赖二价离子的）。引人注目的是，解离的细胞经常可以在体外重新装配成与原来组织相似的结构。这些发现表明，组织结构不仅是历史的产物，而且是由细胞间和细胞与细胞外基质之间的亲和性维持并稳定的。

这个现象的一个显著的例子，是当两种来自不同的脊椎动物的胚胎组织，如肝脏、肾和视网膜的细胞，混合在一起并人工地形成球状，混合物中的细胞会按照它们各自的来源组织，逐渐地分离出来。更一般的是，同种组织类型的细胞更倾向于黏着在一起。显然，这里有使同种组织的细胞更易黏着在一起的细胞识别机制，这些黏着选择性可能在组织结构稳定性中起着重要作用。

细胞通过其表面蛋白与其他细胞或细胞外基质黏着在一起，这些细胞表面蛋白被称为**细胞黏着分子（cell adhesion molecule，CAM）**——包括我们前面讨论过的跨膜连接蛋白在内的一类蛋白质。CAM 可以是细胞-细胞黏着分子，或者是细胞-细胞外基黏着分子。有些 CAM 是依赖 Ca^{2+} 的，有些是不依赖 Ca^{2+} 的。依赖 Ca^{2+} 的 CAM 好像是在早期脊椎动物胚胎中组织特异性细胞黏着中起作用，这就解释了为什么用 Ca^{2+} 螯合剂可以使那些细胞解离。

CAM 起初是通过制造细胞表面分子抗体，然后在试管中检测发现抗体抑制了细胞黏着而鉴别出来的。然后，那些稀有的抑制细胞黏着抗体就被用来分离和描述由这些抗体识别的黏着分子。

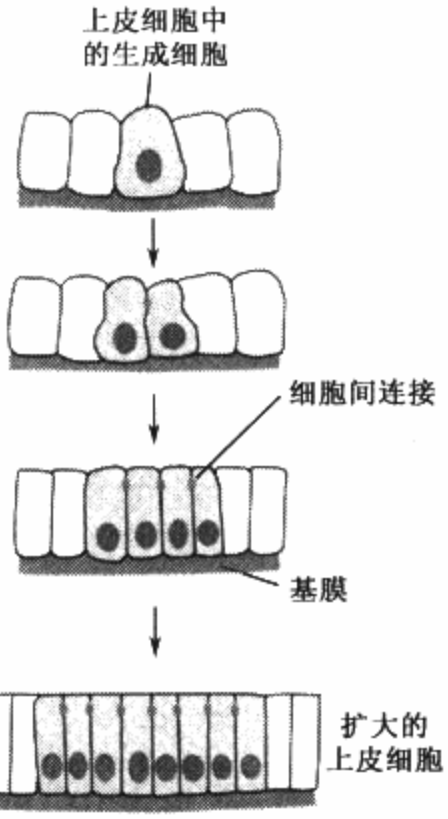


图 19-22　细胞装配成组织的最简单机制

生成细胞（founder cell）的子代通过基膜和细胞-细胞黏着机制（包括细胞间连接的形成）被保持在上皮组织中

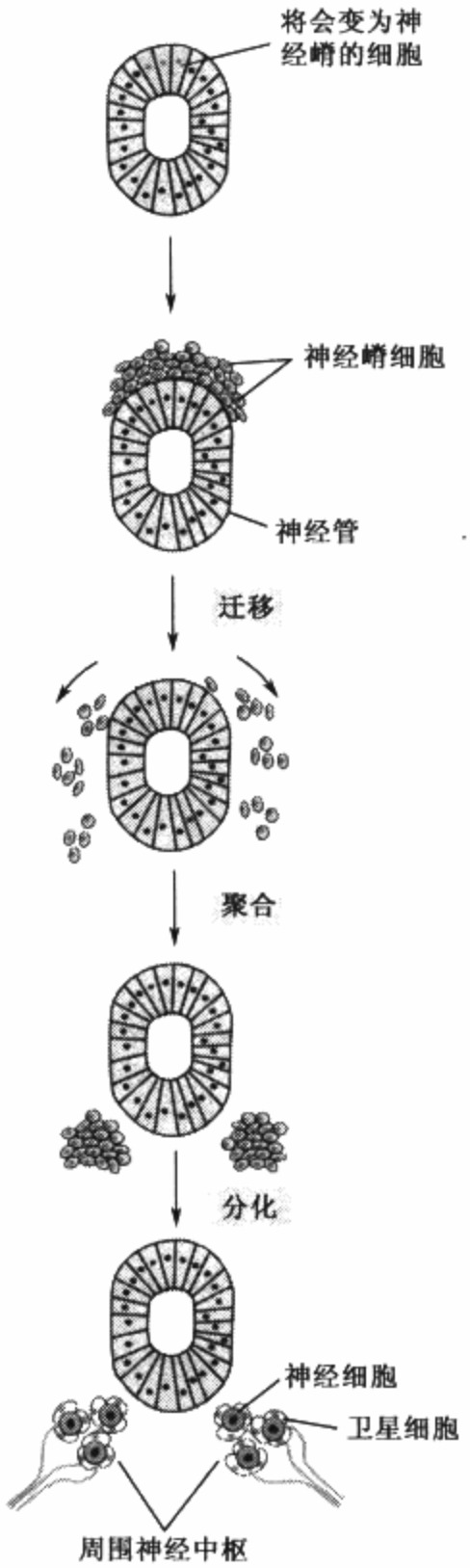


图 19-23　细胞装配成组织的较复杂机制的一个例子

一些起初是上皮神经管一部分的细胞改变了它们的黏着性质，从上皮组织脱离，从而形成神经管上表面的神经板。然后这些细胞迁移到胚胎各处形成不同种类的细胞和组织。这里显示了两种神经细胞的分化和装配，在周围神经系统中，被称为神经中枢。其他的神经板细胞分化成神经元周围的支持（卫星）细胞。冠状细胞倾向于成群迁移，而且边迁移边快速增殖

钙黏素介导依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着

在脊椎动物中，**钙黏素**是负责依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着的主要 CAM。首先发现的三种钙黏

素是根据它们被发现的所在组织而命名的：E-钙黏素存在于多种上皮细胞中；N-钙黏素存在于神经、肌肉和晶状体细胞中；P-钙黏素存在于胎盘和上皮细胞中。这三种钙黏素在其他不同的组织中也有发现。例如，N-钙黏素在成纤维细胞中表达；E-钙黏素在部分脑中表达。这些和其他**典型的钙黏素（classical cadherin）**相比，从细胞外结构域到细胞内结构域，在序列上都是相关的。这里也有许多**非典型的钙黏素（nonclassical cadherin）**，仅仅在脑中表达的就有 50 多种。非典型钙黏素包括已知黏着功能的钙黏素，例如，在前面讨论过的桥粒钙黏素，和在脑中发现的多种钙黏素原。它们还包括没有黏着功能的蛋白质，如T-钙黏素——它缺少跨膜结构域，通过糖基磷脂酰肌醇（glycosylphosphatidylinositol，GPI）附着在神经和肌肉的细胞质膜上；脂蛋白（fat protein）——起初在果蝇中被鉴定为抑癌基因的产物。典型钙黏素和非典型钙黏素一起组成了**钙黏素超家族（cadherin superfamily）**（表 19-3）。

表 19-3　钙黏素超家族的一些成员

名称	主要位置	相关连接类型	当被灭活后的小鼠的表型
典型的钙黏素			
E-钙黏素	上皮组织	黏着带	在胚泡阶段死亡；晶胚不能发生收缩
N-钙黏素	神经元、心脏、骨骼肌、晶状体和成纤维细胞	黏着带和化学突触	晶胚死于心脏缺陷
P-钙黏素	胎盘、表皮、胸部上皮细胞	黏着带	乳腺的不正常发育
VE-钙黏素	内皮细胞	黏着带	血管的不正常发育（内皮细胞凋亡）
非典型钙黏素			
桥粒黏合蛋白	皮肤	桥粒	不清楚
桥粒胶蛋白	皮肤	桥粒	因为缺少细胞黏着的角化细胞，导致严重的皮肤病
1-钙黏素	神经元、肌肉	没有	不清楚
油脂（在果蝇中）	上皮细胞和 CNS	没有	成虫板的扩大和形成肿瘤
钙黏素原	神经元	化学突触	不清楚

钙黏素在脊椎动物和无脊椎动物中都有表达。事实上，根据细胞类型，所有的脊椎动物细胞都表达一种或多种钙黏素。在早期胚胎组织中，它们是维持细胞黏着在一起的主要黏着分子。在人工培养条件下，去除细胞外的 Ca^{2+} 或者用其他钙黏素抗体处理都可以破坏胚胎组织，并且，如果钙黏素介导的细胞黏着完好无缺，其他黏着分子的抗体对胚胎组织则有较小作用。使 E-钙黏素丧失活性的突变将导致小鼠胚胎解离并且在早期发育中死亡。

大部分钙黏素都是一次跨膜糖蛋白，有 700～750 个氨基酸残基。结构研究表明，它们在细胞质膜中聚合形成二聚体或者更大的寡聚体。多肽链细胞外的部分经常折叠形成 5 或 6 个钙黏素重复（cadherin repeat），这个重复与免疫球蛋白结构域相关［图 19-24（A）和（B）］。E-钙黏素和 N-钙黏素的晶体结构有助于解释钙黏素结合 Ca^{2+} 的重要性。Ca^{2+} 定位在每对钙黏素重复之间，锁定重复而形成坚硬的棒状结构，Ca^{2+} 结合得越多，这个结构就越坚硬。如果去除 Ca^{2+}，钙黏素蛋白的细胞外部分就变得松软，并被蛋白质水解酶迅速降解［图 19-24（C）］。

钙黏素在发育中有至关重要的作用

E-钙黏素（E-cadherin）是研究最透彻的钙黏素。它经常集中分布在成熟上皮细胞的黏着连接中，在这里它帮助连接皮层肌动蛋白的细胞骨架［图 19-9（B）］。E-钙黏素也是在哺乳动物发育中第一个表达的钙黏素。它有助于收缩，而收缩是在小鼠胚胎发育 8 细胞期发生的

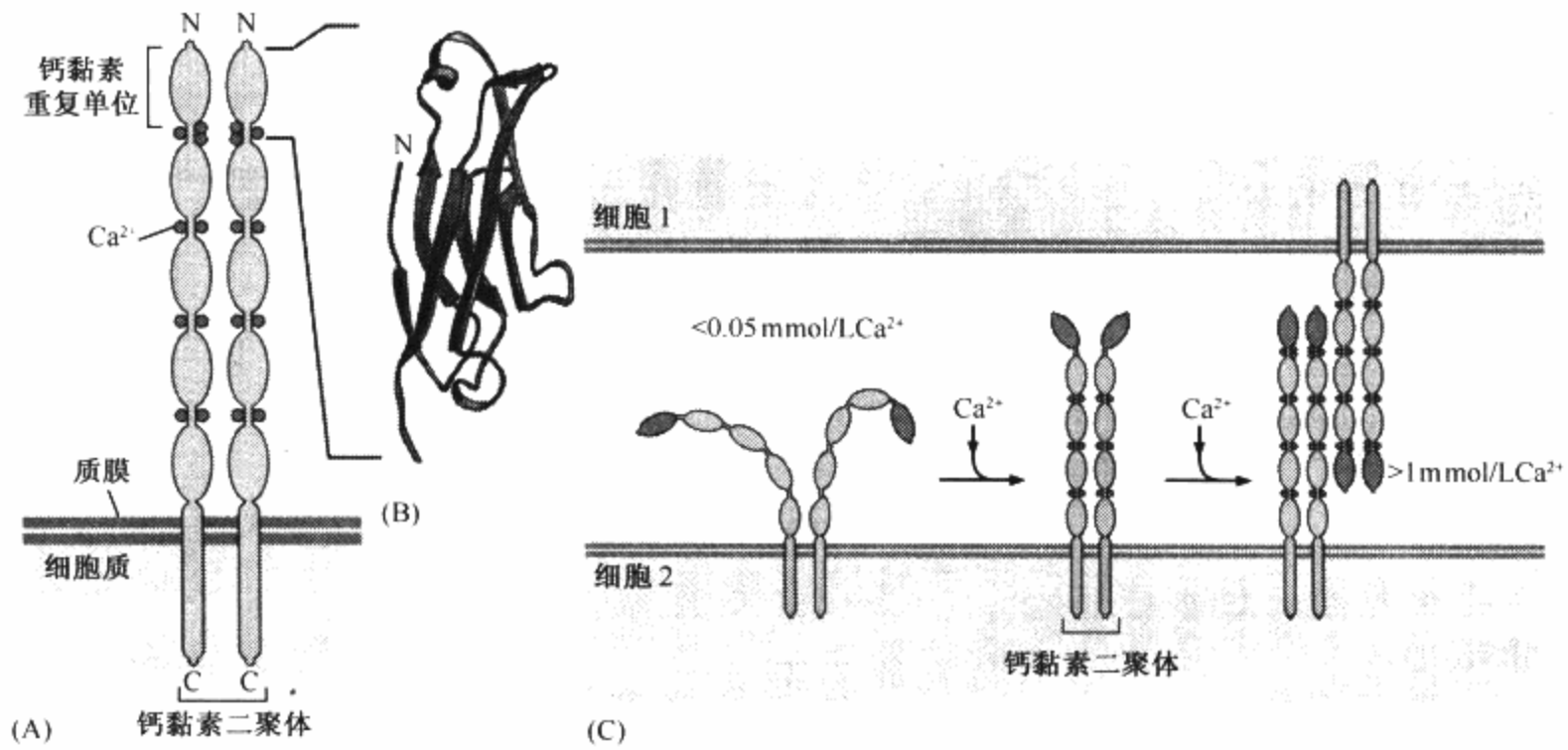


图 19-24　钙黏素的结构和功能

(A) 典型的钙黏素分子。这个蛋白质是同型二聚体，每个多肽链细胞外的部分折叠成 5 个钙黏素重复。每对重复之间都有 Ca^{2+} 结合位点。(B) 单个钙黏素重复的晶体结构，类似于免疫球蛋白 (Ig) 结构域。(C) 细胞外 Ca^{2+} 的影响。当 Ca^{2+} 量增加的时候，钙黏素多肽链细胞外部分变得更加刚硬。当结合了足够多的 Ca^{2+} 后，钙黏素二聚体可以向细胞表面伸展，与相邻细胞的钙黏素二聚体结合。如果去除 Ca^{2+}，该蛋白质细胞外的部分变得松软，被蛋白水解酶降解

一个重要的形态变化。在收缩过程中，被称为分裂球（blastomere）的松散附着的细胞开始紧密地簇集，并且通过细胞内连接结合在一起。E-钙黏素的抗体可以抑制分裂球的收缩，而与其他细胞表面分子反应的抗体则不能。

看起来钙黏素在脊椎动物发育后期也是很重要的，因为它们的出现和消失与组织开始彼此隔离的主要形态分化事件相关。例如，当神经管形成和从外胚层缢裂时，神经管细胞失去 E-钙黏素并且获得了其他的钙黏素，包括 N-钙黏素；而在外胚层中的细胞还一直表达 E-钙黏素（图 19-25）。然后，当神经嵴细胞从神经管迁移出去时，那些钙黏素基本上不能检测到，而另外一种钙黏素（钙黏素-7）使这些迁移细胞松散地维持在一起。最后，当细胞聚集形成一个神经节时，它们又开始表达 N-钙黏素（图 19-23）。

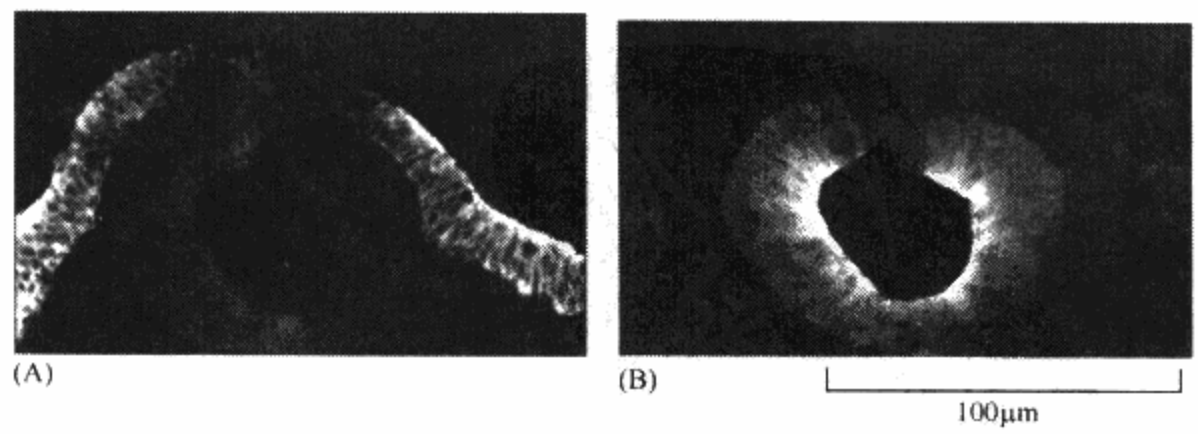


图 19-25　E-钙黏素和 N-钙黏素在正发育的神经系统中的分布

小鸡胚胎横截面的免疫荧光照片，显示了正在发育的神经管，分别用 E-钙黏素抗体 (A) 和 N-钙黏素抗体 (B) 来标记。注意外胚层上面的细胞只表达 E-钙黏素，而神经管中细胞失去了 E-钙黏素而得到了 N-钙黏素。同时可以参见图 19-10

(经 Kohei Hatta and Masatoshi Takeichi 许可)

如果 N-钙黏素在形成的神经嵴细胞中过量表达，这些细胞将不能脱离神经管。因此，来源于一个细胞层的细胞群的相互隔离不仅与细胞表达的不同类型的钙黏素有关，而且与钙黏素表达的量密切相关。

钙黏素通过同源聚合的机制介导细胞黏着

细胞-细胞黏着分子，如钙黏素，是怎样使细胞结合在一起的呢？在图 19-26 中提供了三种可能的方式：①同源结合（homophilic binding）：一个细胞表面的分子和相邻细胞的同类分子结合；②异源结合（heterophilic binding）：一个细胞表面的分子和相邻细胞的不同类分子结合；③依赖连接物的结合（linker-dependent binding）：相邻细胞表面的受体通过分泌的多价连接分子结合在一起。虽然这三种机制在动物中都起作用，但钙黏素通常是通过同源结合发生作用。例如，在一排被称为 L 细胞的人工培养的成纤维细胞中，细胞既不表达钙黏素，也不彼此黏着在一起。当 L 细胞用编码 E-钙黏素的 DNA 转染，转染后的细胞开始以依赖 Ca^{2+} 的方式彼此黏着，并且这种黏着可以被 E-钙黏素的抗体抑制。因为钙黏素蛋白可以彼此直接结合，而转染的细胞和没有转染的细胞不会结合，所以可以得出结论：通过两种位于不同细胞表面的 E-钙黏素的相互作用，E-钙黏素使细胞结合在一起。

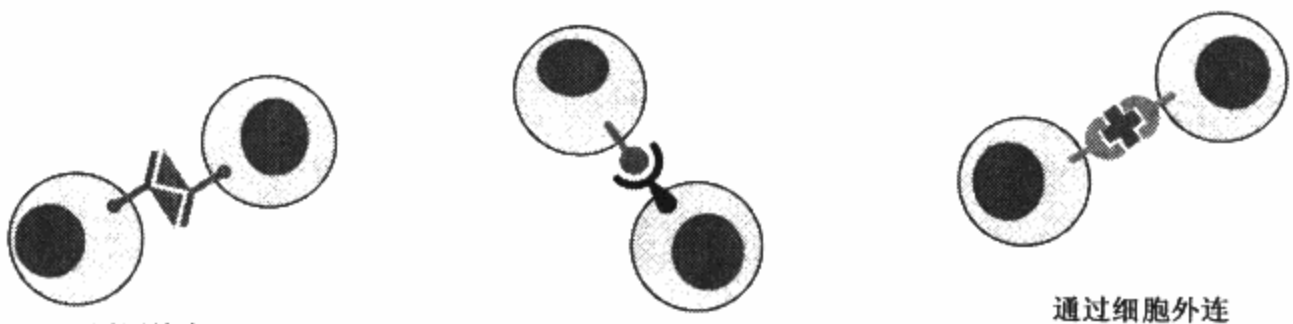


图 19-26　细胞表面分子介导细胞黏着的三种机制

虽然这三种机制在动物中都可以起作用，但是依赖细胞外连接分子的机制是最不常见的

如果把表达不同钙黏素的 L 细胞混合在一起，它们会自动分离并分别聚集在一起，这表明不同类型的钙黏素更倾向于与它们同类型的分子结合［图 19-27（A）］。如果 L 细胞表达不同量的同种钙黏素，相似的分离聚集也会发生［图 19-27（B）］。因此，钙黏素表达在质和量的差异，都会给组织分化造成影响。

特别是在神经系统中，有许多不同种类的钙黏素，每一种都有不同的但有重叠的表达模式［图 19-28（A）］。因为它们集中分布在神经突触处，所以一般认为其在突触形成和稳定中起作用。一些非典型的钙黏素，如钙黏素原，在决定突触连接的特性时非常有用。和抗体一样，它们在 N 端区域有差异，而在 C 端区域则是一样的。细胞外可变区和细胞内恒定区是由分开的外显子编码的，可变区的外显子以一前一后的方式排列在恒定区外显子的上游［图 19-28（B）］。钙黏素原的多样性是由不同的启动子和可变的 RNA 剪接共同造成的，而抗体的多样性则是由位点特异的重组造成的（详见第 24 章）。

钙黏素通过连锁蛋白与肌动蛋白细胞质骨架相连

大部分钙黏素，包括所有典型的和一些非典型的钙黏素，都是作为跨膜连接蛋白间接地与细胞质骨架肌动蛋白相连，从而把细胞结合在一起。这种排列在黏着连接中存在［图 19-9（B）］。这些高度保守的细胞质侧的钙黏素尾，通过一组被称为**连锁蛋白**（**catenin**）的细胞内

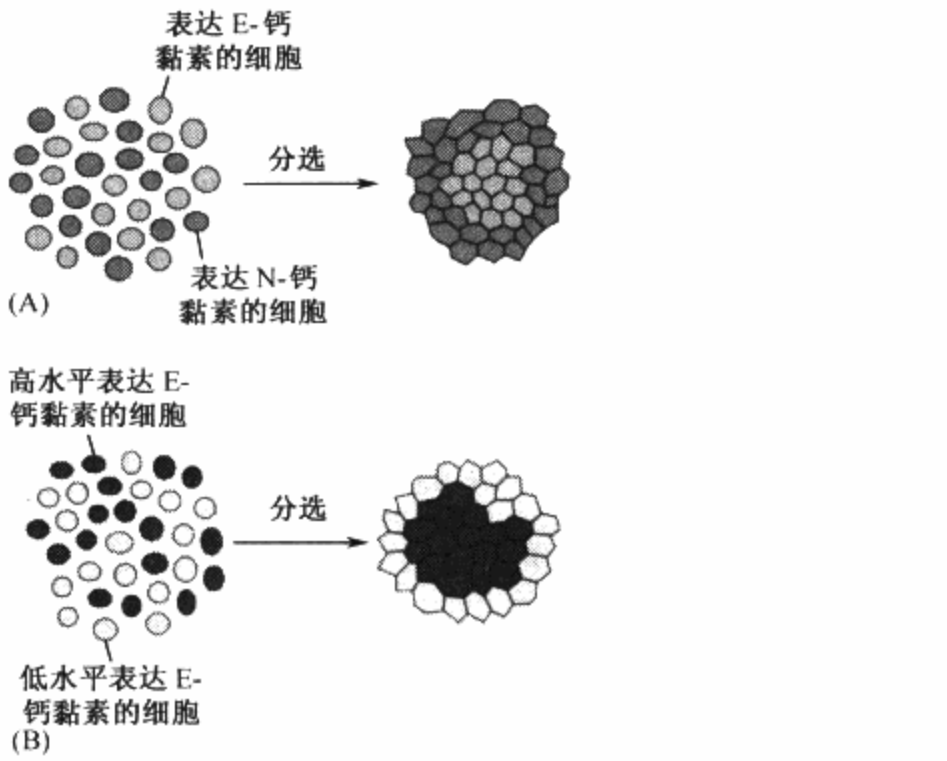


图 19-27　依赖钙黏素的细胞分选

人工培养的细胞可以按照它们所表达的钙黏素的量和种类进行自动分选。这可以通过用不同颜色的染色剂标记不同类群的细胞进行显示。(A) 表达 N-钙黏素的细胞从表达 E-钙黏素的细胞中分选出。(B) 高水平表达 E-钙黏素的细胞从低水平表达 E-钙黏素的细胞中分选出

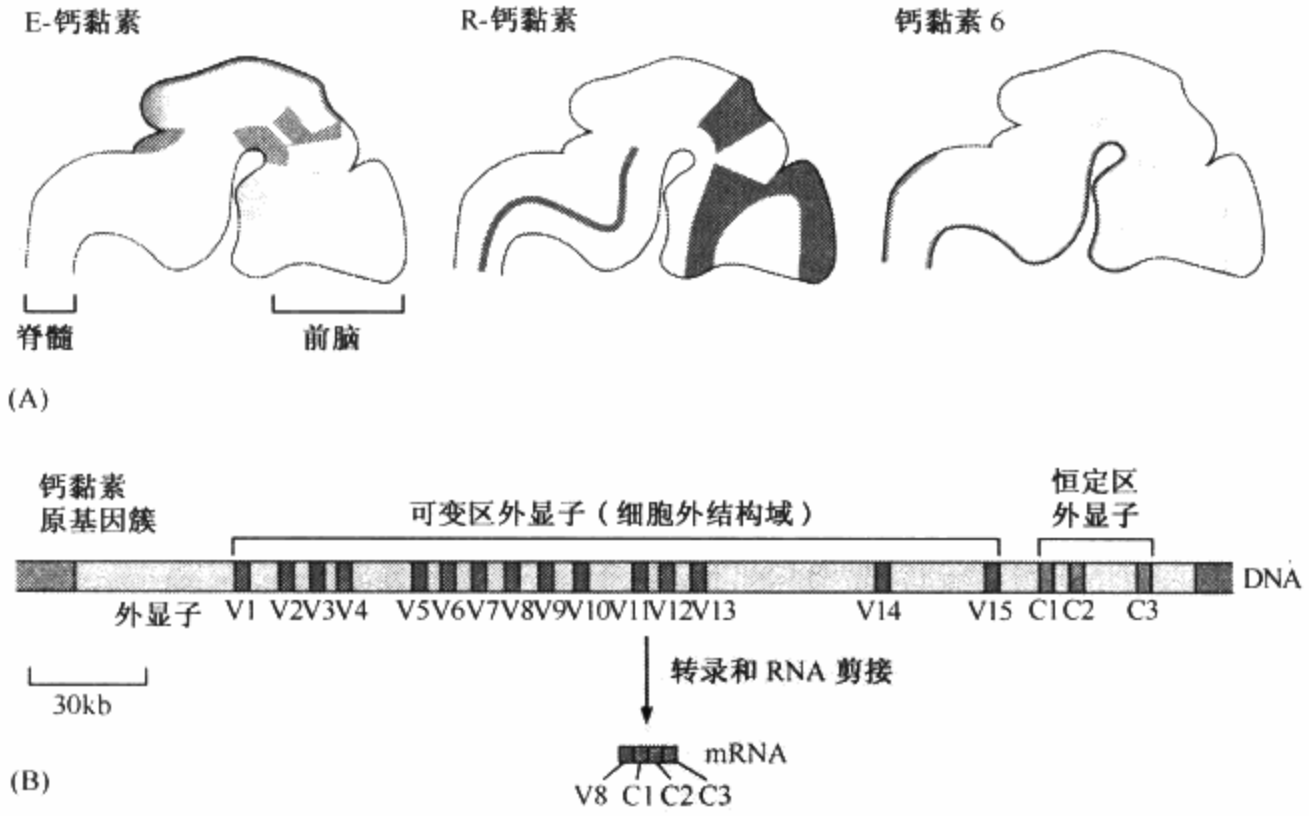


图 19-28　中枢神经系统中钙黏素的多样性

(A) 三种典型的钙黏素在鼠胚胎大脑中的表达模式。(B) 一种在人类中编码非典型钙黏素家族成员的基因外显子的排列。每个可变区外显子编码一种跨膜钙黏素原的细胞外部分，但是由这簇基因编码的所有钙黏素原都具有相同的细胞质尾，这个尾巴由三个恒定区外显子 C1、C2 和 C3 编码。通过利用不同的启动子和 RNA 选择性剪接，基因簇产生多种蛋白质

锚定蛋白（图 19-29）间接地与肌动蛋白纤维丝相连。这个相互作用对于有效的细胞黏着是很重要的，因为典型的钙黏素缺少细胞质侧尾，不能有力地把细胞维持在一起。

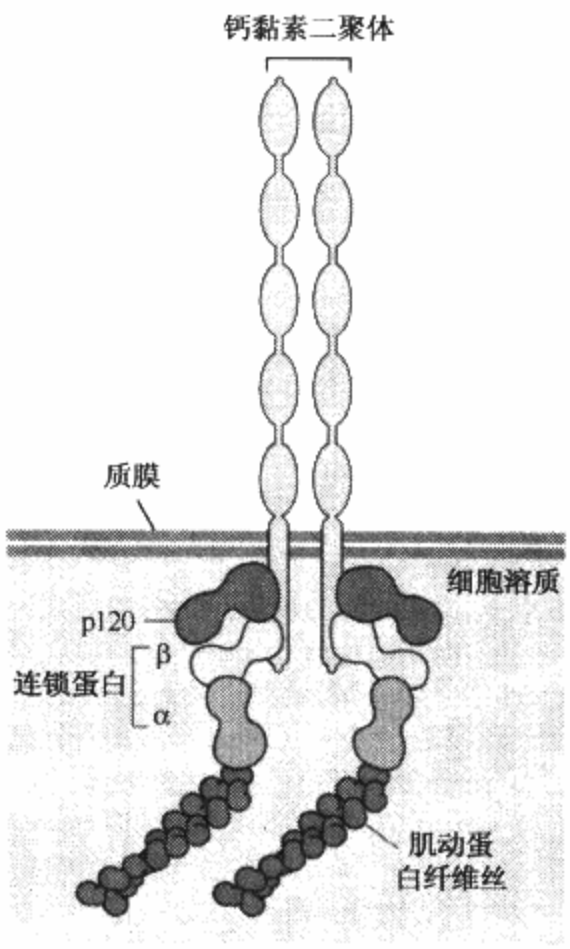


图 19-29　典型钙黏素与肌动蛋白丝的连接

钙黏素通过锚定蛋白 α-连环蛋白和 β-连锁蛋白与肌动蛋白丝间接相连。第三种细胞内蛋白被称为 p120，也结合在钙黏素细胞质尾上，调节钙黏素的功能。β-连环蛋白在细胞内信号转导中有第二个非常重要的作用，我们将在第 15 章进行讨论（图 15-72）

正如前面所述，形成桥粒的非典型的钙黏素与中间纤维相互作用，而不是与肌动蛋白相互作用。它们细胞质内的结构域与另一类细胞内锚定蛋白结合，然后锚定蛋白与中间纤维结合。

一些细胞可以调节它们钙黏蛋白的黏着活性。这种调节对于发生在上皮细胞内的细胞重新装配来说可能是重要的——在动物发育过程中，当细胞板改变它们的形状和组织时，细胞重装配就会发生（图 19-10）。这个调节的分子基础还不很清楚，但可能包括结合在钙黏素细胞质尾的锚定蛋白的磷酸化。

一些钙黏素可以帮助把信号传导到细胞内部。例如，血管内皮钙黏素（VE-cadherin）不仅介导内皮细胞间的黏着，而且对于内皮细胞的生存也是必需的。虽然不表达 VE-钙黏素的内皮细胞也能通过 N-钙黏素彼此黏着，但是它们不能生存（表 19-3）。它们的生存依赖一种被称为血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）的细胞外信号蛋白，这种蛋白质与酪氨酸激酶受体结合（在第 15 章讨论），而这种酪氨酸激酶受体需要 VE-钙黏素作为辅助因子。

在血液中选择素介导短暂的细胞黏着

白细胞过着游牧般的生活，在血液和组织间来回移动，这就需要特别的黏着特性。这种特性依赖于**选择素（selectin）**。选择素是细胞表面糖基结合蛋白（凝集素），在血液中介导多种短暂的、依赖于 Ca^{2+} 的细胞-细胞黏着。至少有三种选择素：在血液白细胞表面的 L-选择素，在血小板上和在经过局部炎症反应活化的内皮细胞上的 P-选择素和在活化的内皮细胞上的 E-选择素。每种选择素都是有一个高度保守的凝集素结构域的跨膜蛋白，而凝集素结构域与另一细胞表面的特异寡糖结合［图 19-30（A）］。

选择素对于白细胞与血管内层内皮细胞的结合非常重要，这样使血液细胞能够从血液中迁移到组织中。在淋巴组织中，内皮细胞表达的寡糖被淋巴细胞上的 L-选择素识别，导致淋巴细胞停留下来而徘徊不前。相反，在发炎位点，内皮细胞启动了选择素的表达，然后识别白细胞和血小板上的寡糖，使这些细胞停留下来，帮助处理这里的炎症问题。然而，选择素并不单独起作用，它们与能增强血细胞与内皮结合的整联蛋白一起发挥作用。由选择素和整联蛋白介导的细胞黏着都是趋异性的（图 19-26）：选择素与特异糖蛋白上的寡糖和糖脂结合，而整联蛋白与特异的蛋白质结合。

选择素和整联蛋白依次发挥作用，使白细胞离开血液进入组织。选择素介导较弱的黏着，因为选择素的凝集素结合结构域与它们的糖配基亲和力低。这使白细胞可逆、较弱地附着在内皮上，在血液流动的推动下沿着血管表面滚动前进。直到血细胞激活它的整联蛋白，滚动前进才停止（在后面讨论），从而导致白细胞稳定地黏着在内皮细胞表面，并且从相邻内皮细胞之间“爬出”血管［图 19-30（B）］。

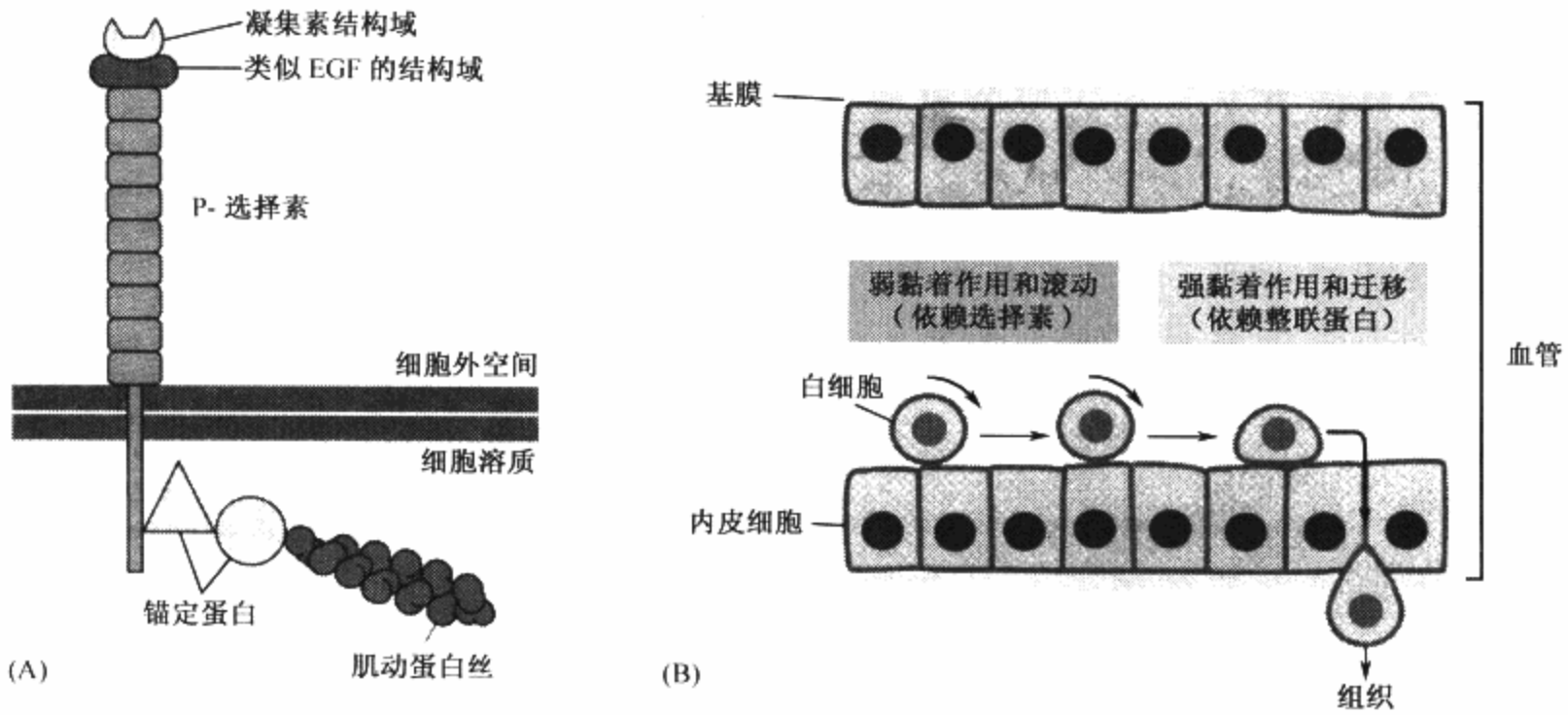


图 19-30　选择素的结构和功能

（A）P-选择素的结构。选择素通过锚定蛋白附着在细胞质骨架肌动蛋白上，这些锚定蛋白目前还不是很了解。（B）选择素和整联蛋白是如何介导白细胞从血管中迁移到组织中所需要的细胞-细胞黏着

免疫球蛋白超家族成员介导不依赖 Ca^{2+} 的细胞-细胞黏着

钙黏素、选择素和整联蛋白都要依赖细胞外 Ca^{2+}（有的整联蛋白依赖 Mg^{2+}）才能发挥细胞黏着功能。负责不依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着的分子，主要属于一个大而古老的免疫球蛋白超家族［immunoglobulin（Ig）superfamily］。这些蛋白质包含一个或多个类似 Ig 的结构域，这种结构域是抗体分子的特征（在第 24 章讨论）。研究比较清楚的一个例子是**神经细胞黏着分子（neural cell adhesion molecule，N-CAM）**，这种分子在多种细胞中表达，包括最多的神经细胞。在脊椎动物中，N-CAM 是最普遍的、不依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着分子，并且和钙黏素一样，被认为是通过同源聚合机制（在相邻细胞的 N-CAM 分子之间）使细胞结合在一起。然而，一些类似 Ig 的细胞黏着蛋白采取的是异源聚合机制。例如，正如刚才所讨论的一样：当血细胞迁移出血流时，在内皮细胞上的细胞内黏着分子（intercellular adhesion molecule，ICAM）是与血细胞上的整联蛋白结合的。

至少有 20 种 N-CAM 都是由同一个基因通过 RNA 转录本的不同剪接而产生的。在所有种类的 N-CAM 中，多肽链在细胞外的部分都折叠成 5 个类似 Ig 的结构域（图 19-31）。有些类型的 N-CAM 携带非常多的唾液酸（具有包含数百唾液酸重复单位的链）。由于带负电荷，长的多聚唾液酸链阻止细胞黏着，并且越来越多的证据表明，带有大量唾液酸链的 N-CAM 主要是防止细胞黏着，而不是导致细胞黏着。

虽然钙黏素和 Ig 家族成员通常在同一细胞里表达，但是由钙黏素介导的细胞黏着更加稳定，而且它们主要负责把细胞聚集在一起、使细胞群体分化为离散的组织和维持组织的完整性。N-CAM 和其他 Ig 家族成员好像对在发育和再生中的细胞黏着作用的精细调节起着更多的作用。例如，在啮齿动物胰腺发育中，在细胞分选之后，胰岛的形成需要细胞聚集。然而，抑制钙黏素的功能阻止了细胞聚集和胰岛的形成，而 N-CAM 的功能丧失仅仅减弱了细胞分选而形成了无序的胰岛。

同样地，缺失 N-钙黏素的小鼠突变体在发育早期死亡，而缺失 N-CAM 的小鼠突变体发育相对正常，尽管它们在神经系统发育中存在一些缺陷。然而，其他编码类似 Ig 的细胞黏着

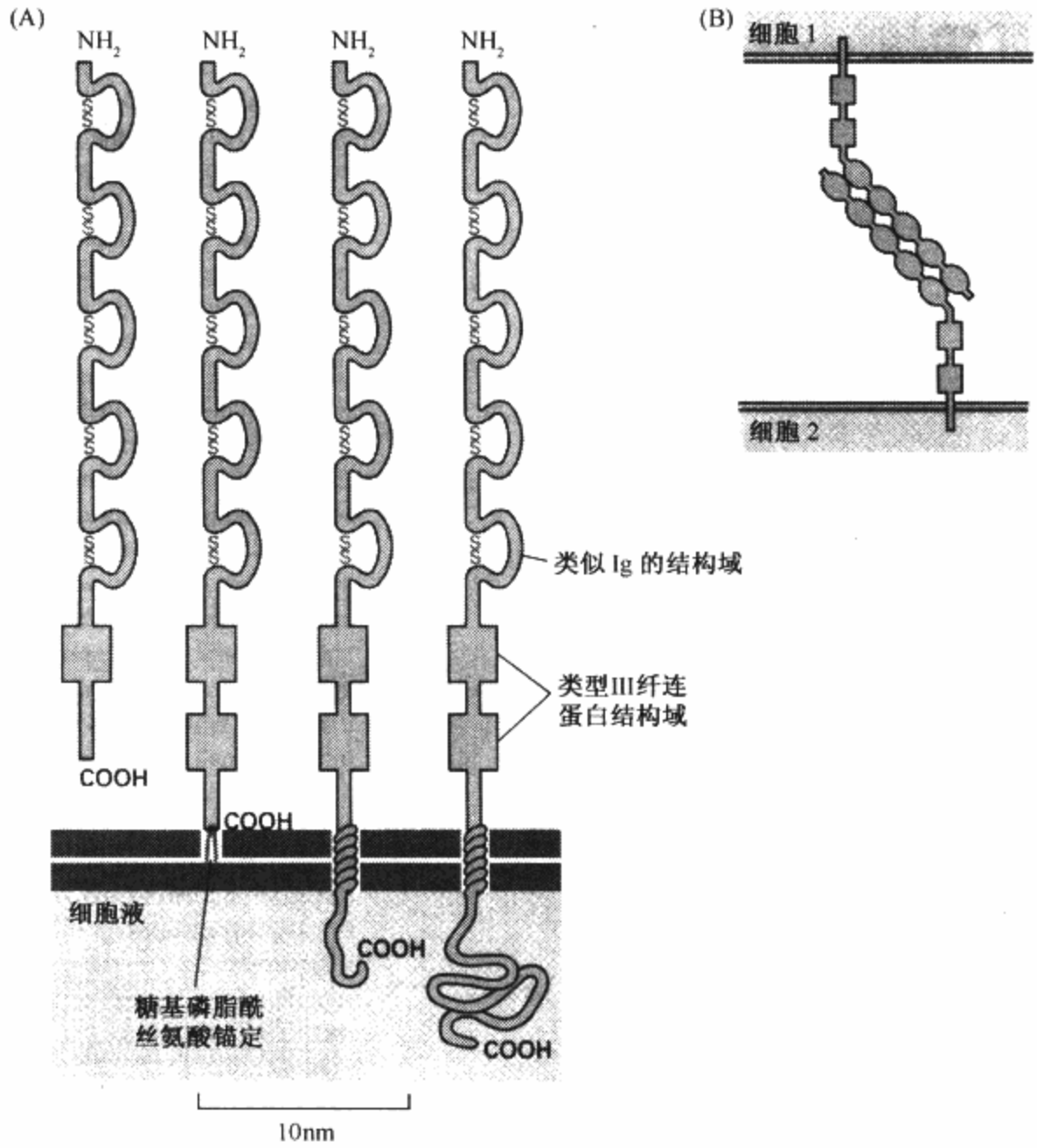


图 19-31　细胞黏着蛋白 N-CAM

（A）N-CAM 的 4 种形式。每种形式的细胞外多肽链都折叠成 5 个类似 Ig 的结构域（和一二个其他结构域，被称为纤连蛋白类型 III 重复）。二硫键（红色）连接每个形成类似 Ig 结构域的环的末端。（B）允许 N-CAM 介导细胞黏着的同源相互作用的一个模型

蛋白基因的突变可以导致更严重的神经系统缺陷。例如，在人类中，*L1* 基因的突变使神经细胞迁移和它们的轴突发育异常，导致智力发育延迟和其他神经性疾病。

在神经系统发育中，类似 Ig 的细胞黏着蛋白连接神经元的重要性在果蝇中得到显著的证明。一种被称为轴突成束蛋白Ⅲ（FAS3）的类似 N-CAM 的蛋白质除了在一些运动神经元中瞬时表达，也在受神经支配的肌肉细胞中表达。如果从这些神经细胞中去除 FAS3，它们将不能识别自己的目标肌肉细胞，也不能与之形成突触连接。相反，如果使不表达 FAS3 的运动神经元表达这种蛋白质，它们就与在正常情况下不与之连接的肌肉细胞形成突触。FAS3 好像是通过同源“搭配”的机制介导这些突触连接。

和钙黏素一样，有些类似 Ig 的蛋白质不仅仅把细胞黏着在一起。它们也能向细胞内部传递信号。例如，在神经细胞中，有些类型的 N-CAM 与 Src 家族（Src family）的胞质酪氨酸激酶结合，然后通过使胞内蛋白上的酪氨酸磷酸化而继续信号的向前传递。另一种 Ig 家族成员是跨膜酪氨酸磷酸酶（在第 15 章中讨论），它可能是通过使特异的细胞内蛋白质去磷酸化来帮助引导轴突向它们的目标细胞生长。

多种类型的细胞表面分子平行发挥作用来介导选择性细胞-细胞黏着

在与其他细胞黏着时，有一种类型的细胞采取多种分子机制。其中一些机制包括细胞有组织地连接，而其他的没有（图 19-32）。在多细胞动物中，每个细胞都含有一系列的细胞表面受体，这些受体分子使细胞对细胞外可溶性信号分子进行特异应答，如激素和生长因子。同样，在组织中的每一个细胞都有一套独特的细胞表面黏着分子，这使它能够以自己独特的方式与其他细胞或者细胞外基质相连。细胞黏着分子也能作为细胞外可溶性信号分子的受体，产生细胞内信号来改变细胞的行为，然而这种信号传导机制目前还不清楚。

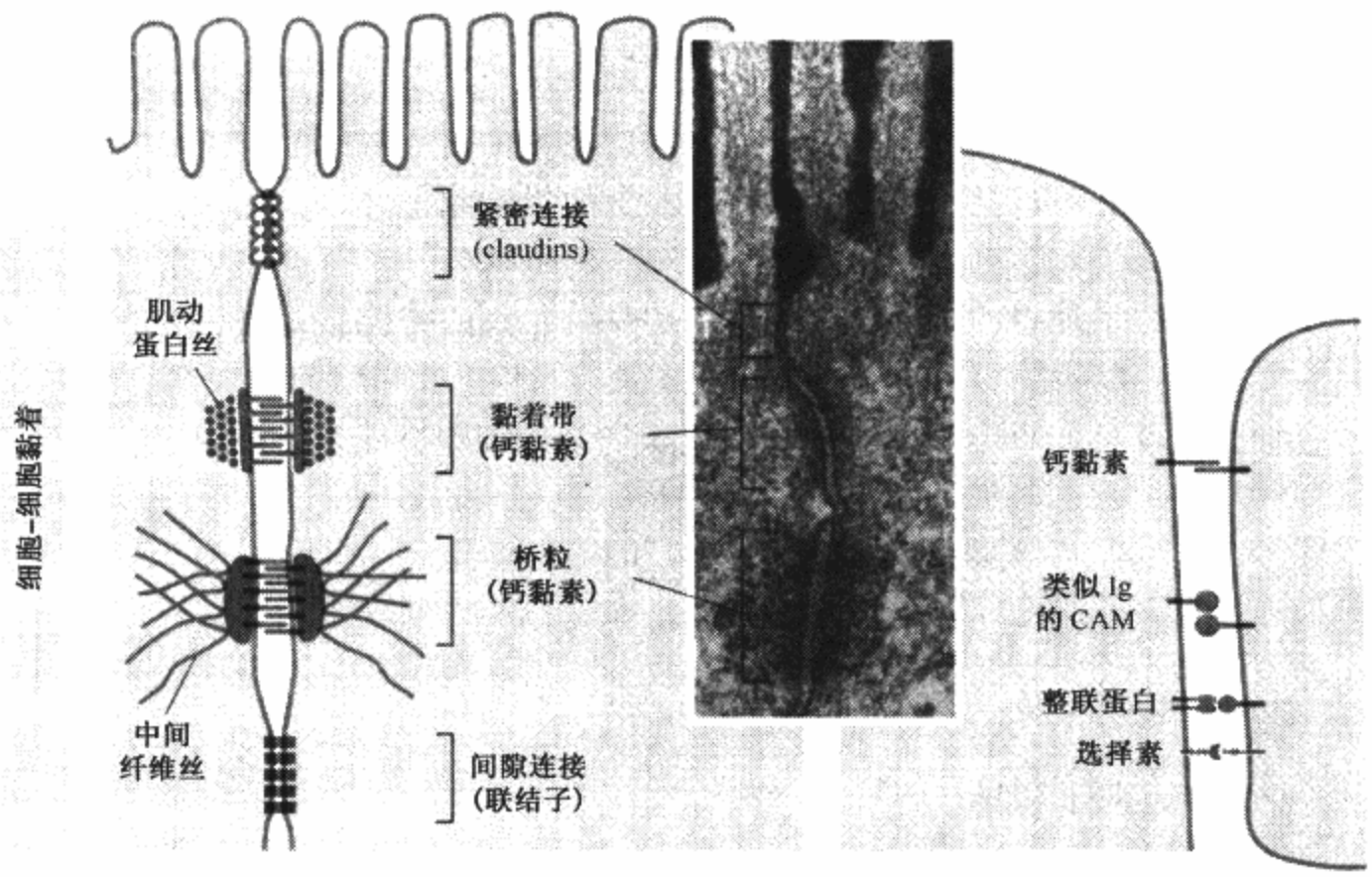


图 19-32　在动物细胞中，细胞间或细胞与细胞外基质间，连接性或非连接性黏着机制的总结

连接性的机制在上皮细胞中显示，非连接性机制在非上皮细胞中显示。连接性黏着是指在传统的或冷冻蚀刻电镜下，能够看到的一个接触的特化区域。非连接黏着则没有这么明显的特化结构。注意：整联蛋白和钙黏素都参与了连接性和非连接性细胞-细胞（钙黏素）接触及细胞-细胞外基质（整联蛋白）接触。钙黏素一般介导同源相互作用，而整联蛋白常介导异源相互作用（图 19-26）。钙黏素、整联蛋白和选择素作为跨膜锚定分子发挥作用，并且依赖细胞外二价离子；因为上述原因，大部分细胞-细胞、细胞-细胞外基质的接触是依赖二价离子的。在血细胞上，选择素和整联蛋白也可以作为异源细胞-细胞黏着分子：选择素与糖基结合，而使细胞结合在一起的整联蛋白则与 Ig 超家族的成员结合。整联蛋白和膜整联的糖蛋白介导与细胞外基质的非连接性黏着在后面进行讨论（经 Daniel S. Friend 许可）

不像可溶性信号分子受体以高亲和力与它们的特异配体结合，细胞表面或者细胞外基质中的受体分子往往以相对较弱的亲和力与它们的配体结合。这种低亲和性的受体依靠大量的受体分子与在其他细胞上或者相邻的细胞外基质中的大量配体结合，这被称为“维克劳原理”

(Velcro principle)。

然而，我们已经知道：这些细胞表面分子的细胞外结合结构域之间的相互作用并不能保证细胞黏着。我们将会看到，至少在钙黏素存在的情况下，黏着分子必须也与细胞内的细胞骨架附着（通过锚定蛋白）。一般认为，细胞质骨架帮助和稳定黏着分子在侧面簇集而有利于多位点的结合。黏着细胞牵引相邻细胞或者细胞基质，也需要细胞质骨架（反之亦然）。因此，除了在任何两个细胞上的特异类型细胞黏着分子的混合之外，这些分子的浓度、细胞骨架连接和在细胞表面的分布一起决定了这两个细胞间的亲合程度。

非连接的接触可能起始细胞-细胞黏着，然后连接的接触导向和稳定细胞-细胞黏着

在组织和器官的形成中，或在成人组织创伤后修复中，细胞间的黏着接触起着重要的作用。通常，这些接触并不包括在电子显微镜下看到的细胞间连接。相互作用的细胞质膜看起来只是彼此靠近并且平行排列，而且被 10～20nm 的距离分开。这种类型的“非连接”接触对细胞的移动可能是最理想的——对于提供相互牵引和允许跨膜黏着蛋白相互作用来说足够近，但又不是太紧，或者稳定地把细胞锚定在细胞质骨架上，以致使细胞不能移动。

一个合理的假设是：非连接细胞-细胞黏着蛋白起始细胞黏着，然后通过完全形成的细胞内连接来导向和稳定细胞黏着。许多跨膜蛋白质，包括可以在细胞质膜表面扩散的蛋白质，可以通过这种或其他方式被募集到细胞-细胞（和细胞-基质）接触的位点，使非连接黏着扩大和成熟为连接黏着。这已经通过一些整联蛋白和钙黏素得到证明，这些蛋白质开始时帮助起始细胞黏着，后来就变为细胞连接中的一部分。例如，在轴突的迁移顶端表面有均匀分布的钙黏素，这有助于这个细胞在迁移过程中与其他细胞黏着。在质膜下，它还有钙黏素小泡形成钙黏素库。一旦轴突到达它的目标细胞，它就释放细胞内的钙黏素到这个细胞表面，这有助于形成稳定的接触，然后成熟为化学突触。

如前文所讨论的，黏着连接蛋白的抗体阻止了紧密连接和黏着连接的形成，表明一种连接的装配可能是另一种连接装配的先决条件。已经产生了越来越多的可以阻碍单一细胞黏着分子的单克隆抗体和多肽片段。此外，越来越多的编码这些细胞表面蛋白的基因被鉴定，为在培养条件下和实验动物中操作细胞黏着机器创造了新的途径。现在使多种细胞黏着蛋白一起失去活性已经成为可能——这在破译复杂组织形成中的细胞-细胞识别和结合规则是必需的。

小结

把从脊椎动物胚胎的各种不同的组织中解离的细胞混合在一起时，更倾向于与来自同一组织的细胞重新结合。在脊椎动物中，这种组织特异性的识别过程主要由一类被称为钙黏素的依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着蛋白家族介导，它们通过这些在相邻细胞上的跨膜蛋白之间的同源聚合作用把细胞维持在一起。为了有效地进行相互作用，钙黏素的细胞质部分必须通过被称为连锁蛋白的细胞质锚定蛋白与细胞质骨架相连接。

在细胞-细胞黏着中，其他两个跨膜黏着蛋白家族起主要作用。选择素通过与细胞表面上的特异寡糖结合，在短暂的依赖 Ca^{2+} 的细胞-细胞黏着中发挥作用。免疫球蛋白超家族的成员，包括 N-CAM，介导不依赖 Ca^{2+} 的细胞黏着过程，这在神经系统的发育中非常重要。

在与其他细胞（或与细胞外基质）的黏着中，甚至有一种类型的细胞采取多种分子机制。因此，胚胎发育中的细胞-细胞（和细胞-基质）黏着的特征，必定是几种不同的黏着系统联合作用的结果，有的黏着与特化的细胞连接相连，而其他的则不连。

动物的细胞外基质

组织不仅仅由细胞组成。它们的大部分体积是细胞外空间，这些空间主要被大分子形成的复杂网络填充，而大分子组成的复杂网络构成了**细胞外基质（extracellular matrix）**（图19-33）。细胞外基质由多种蛋白质和多聚糖组成，细胞局部分泌蛋白质和多聚糖，组装成与产生它们的细胞表面紧密相连的网架结构。

我们在上皮组织部分主要讨论了细胞连接，那么我们将主要在结缔组织部分讨论一下细胞外基质（图19-34）。结缔组织中的细胞外基质比它周围的细胞要丰富得多，并且它决定了组织的物理性质。结缔组织形成了脊椎动物的身体框架，但是在不同器官中结缔组织的含量变化很大——在软骨和骨中，它们是主要成分；而在脑和脊髓中，它们只占很少的部分。

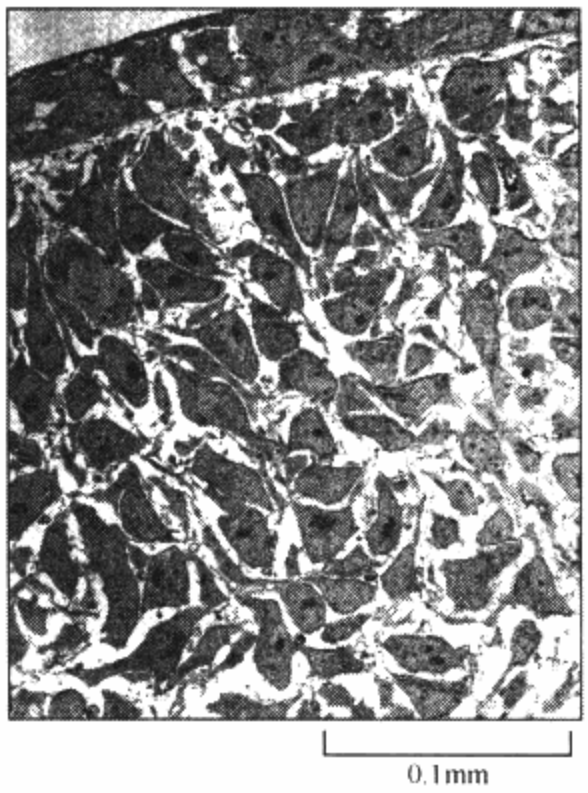


图19-33　细胞周围空间充满了细胞外基质
这张低能电子显微照片显示的特殊细胞是鸡胚胎肢芽细胞。这些细胞还没有发生特化变化（经Cheryll Tickle许可）

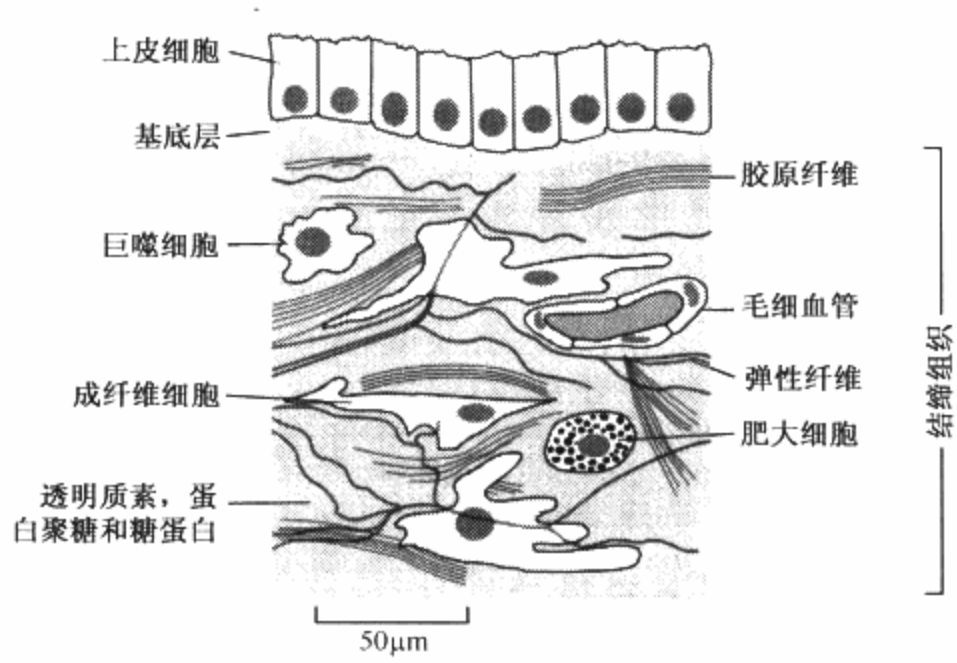


图19-34　上皮细胞下的结缔组织
这个组织含有多种细胞和细胞外基质成分。主要细胞类型是成纤维细胞，这种细胞分泌大量的细胞外基质

不同类型基质大分子的量和它们以不同的方式组装，就产生了大量不同形式的细胞外基质，以适应不同组织的功能要求。基质可以钙化成石头般坚硬的结构，如骨头和牙齿；也可以形成透明的角膜；也可适应线状的组织，使肌腱能够抗很强的张力。在上皮组织和结缔组织交界处，基质形成基膜（图19-34），这对控制细胞行为是很重要的。

曾经认为脊椎动物细胞外基质只是作为一个相对静止的脚手架，以稳定组织的物理结构。但是现在知道基质是活动的，在调节与之接触的细胞行为中起着复杂的作用，影响细胞的生存、发育、迁移、增殖、形状和功能。细胞外基质具有相对复杂的分子组成，虽然我们还不是完全了解，但是，对细胞外基质主要成分的研究已取得了很大的进展。

我们主要讨论脊椎动物的细胞外基质，但是细胞外基质的起源是非常久远的，并且所有多细胞的生物体都有细胞外基质，例如，蠕虫和昆虫的表皮，软体动物的外壳以及我们后面将讨论的植物细胞壁。

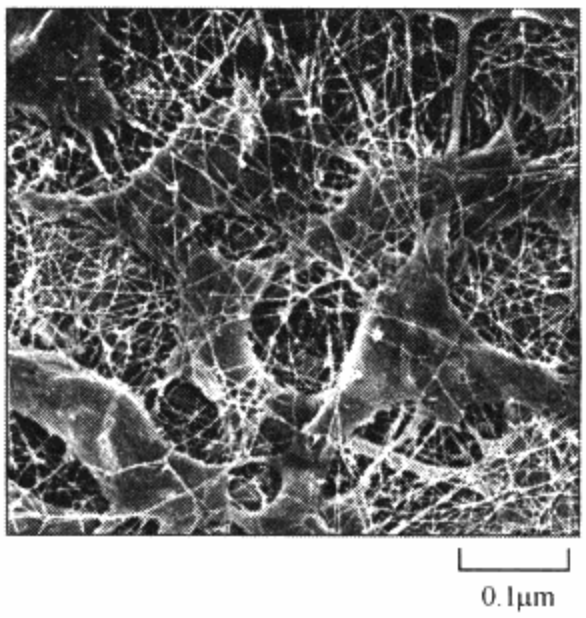


图 19-35　结缔组织中的成纤维细胞

这张扫描电镜照片显示了来自鼠角膜的组织。成纤维细胞周围的细胞外基质主要由胶原原纤维组成（角膜中没有弹性纤维）。糖蛋白、透明质和蛋白聚糖一般组成填充纤维网络空隙的含水凝胶，这里已经被酶和酸处理去除（摘自 T. Nishida et al.，*Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 29：1887～1890，1988. © Association for Research in Vision and Opthalmology）

细胞外基质由其中的细胞形成和定向

组成细胞外基质的大分子，主要由基质中的细胞局部产生。正如我们后面将讨论的，这些细胞还有助于组织基质：细胞内细胞骨架的方位可以控制在外面产生的基质的方位。在大多数结缔组织中，基质大分子主要由**成纤维细胞**分泌产生（图 19-35）。然而，在某些特化的结缔组织中，如软骨和骨中，它们是由成纤维细胞家族中的其他细胞分泌的，如软骨中的成软骨细胞（chondroblast）和骨中的造骨细胞（osteoblast）。

两种主要的细胞外大分子组成了基质：①被称为黏多糖（glycosaminoglycan，GAG）的多聚糖链，黏多糖经常以蛋白聚糖（proteoglycan）的形式与蛋白质共价结合；②纤维状蛋白，包括胶原（collagen）、弹性蛋白（elastin）、纤连蛋白（fibronectin）和层粘连蛋白（laminin），这些蛋白质具有结构和黏着作用。我们会看到这两类的成员在形状和大小上是非常多样的。

结缔组织中的蛋白聚糖分子形成高度亲水的、凝胶状的“基质”，纤维状蛋白植入其中。多聚糖凝胶抵抗作用在基质上的压力，同时还允许营养物质、代谢分子和激素在血液和组织细胞之间快速扩散。胶原纤维增强和帮助组织基质，而橡皮状的弹性蛋白纤维赋予基质弹性。最后，许多基质蛋白帮助细胞附着在适当的位置。

黏多糖（GAG）链占了大部分空间并且形成亲水凝胶

黏多糖（**glycosaminoglycan**，GAG）是不分支的多聚糖，由二糖重复单位组成。它们被称为黏多糖，是因为二糖重复单位中的一个总是氨基糖（*N*-乙酰氨基葡萄糖或者 *N*-乙酰基半乳糖胺），在多数情况下都是以硫酸盐的形式存在。第二个糖经常是一个糖醛酸（葡萄糖醛酸

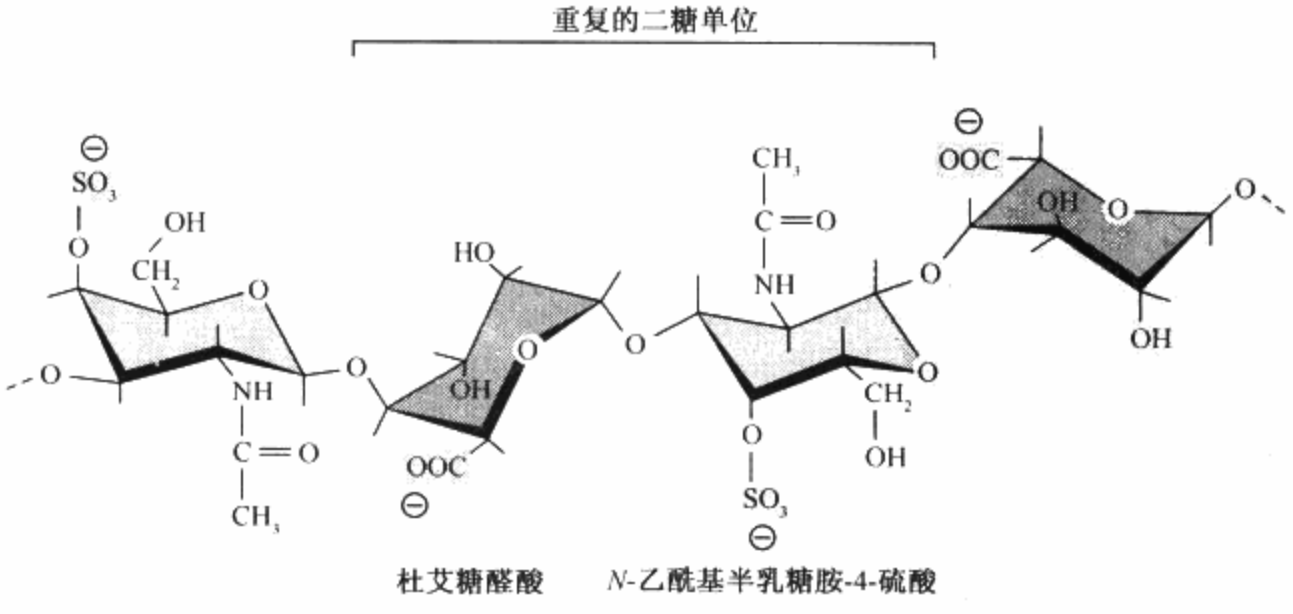


图 19-36　硫酸皮肤素黏多糖（GAG）链的二糖重复序列

这些链一般是 70～200 个糖基长。因为羧基和硫酸基的存在，这些链带有高密度的负电荷

或者艾杜糖醛酸）。因为在大部分糖残基上有羧基或硫酸基，所以 GAG 都是高负电性的（图 19-36）。事实上，它们是动物细胞产生的最多的负电荷分子。根据糖残基的性质、连接方式以及硫酸基的数量和位置，可将 GAG 分为 4 类：①透明质素（*hyaluronan*）；②硫酸软骨素（*chondroitin sulfate*）和硫酸皮肤素（*dermatan sulfate*）；③硫酸肝类素（*heparan sulfate*）；④硫酸角质素（*keratan sulfate*）。

多聚糖链太坚硬而不能折叠形成多肽经常形成的紧凑的球状结构。此外，它们都是强亲水的。因此，GAG 更趋向于高度伸展的构型，相对于它们的分子质量占用巨大的空间（图 19-37），并且，它们即使在很低浓度的情况下也能形成凝胶体。它们高密度的负电荷吸引了大量的阳离子，大部分是 Na^+，Na^+ 具有渗透活性，可导致基质吸收大量的水。这产生了膨胀压，使基质能够承受外界压力（与抗张力的胶原原纤维作用相反）。例如，在膝关节处的软骨基质能以这种方式承受几百个大气压的压力。

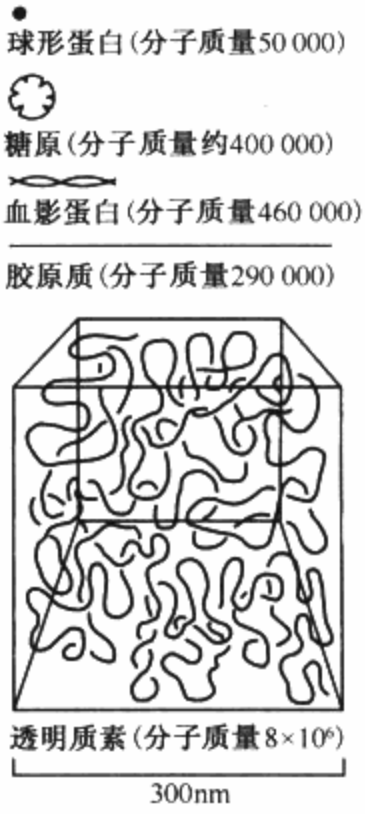


图 19-37　各种大分子占据的尺寸和体积
图中显示了几个蛋白质、一个肝糖粒和透明质素的一个含水分子

结缔组织中的 GAG 通常占不到纤维蛋白质量的 10%。但是由于它们形成多孔含水凝胶，GAG 链占了细胞外基质的大部分空间，为组织提供机械支持。一种人类罕见的基因病中，不能合成硫酸皮肤素的二糖（图 19-36），这样的个体身材矮小、有早熟的表现，并且，它们的皮肤、关节、肌肉和骨头都具有缺陷。

然而，需要强调的是，在无脊椎动物和植物中，细胞外基质中其他类型的多聚糖经常占支配地位。因此，正如我们后面讨论的，在高等植物中，纤维素链形成带形结晶，构成细胞壁的微原纤维。在昆虫、甲壳类和其他节肢动物中，角质（多聚 *N*-乙酰氨基葡萄糖）是形成外骨骼的主要成分。纤维素和角质素是地球上最丰富的生物高聚物。

一般认为透明质素在组织形态发生和修复中有利于细胞迁移

透明质素（也称为透明质酸）是最简单的 GAG（图 19-38）。它包括 25 000 多个不含硫酸的二糖重复单位，在成年动物的所有组织和体液中都有发现，只是含量有所不同，而在早期胚胎中尤其丰富。透明质素不是典型的 GAG。与所有其他的 GAG 相比，它不含硫酸糖，它所有的二糖单位都是一样的，其链长度非常大（数千的糖单体），并且不与任何核心蛋白共价连接。此外，其他的 GAG 都在细胞内合成，通过胞吐作用释放出来；而透明质素则是通过根植在质膜中的酶复合物直接从细胞表面“吐出”。

一般认为透明质素在组织和关节抵抗外界压力时起作用。并且它作为空间填充物，在胚胎发育中是非常重要的，它可以迫使胚胎结构的形状发生改变，因为与水的小量扩展可以占据大部分空间（图 19-37）。例如，透明质素在上皮细胞基底部合成，产生一个细胞自由的空间，细胞可以向其中迁移；这在心脏、角膜和其他几个器官形成中发生。当细胞迁移完成后，多余的透明质素被透明质酸酶（hyaluronidase）降解。在伤口愈合时，透明质素也大量产生，并且它是关节体液的重要成分，在关节中起润滑剂的作用。

透明质素的许多功能依赖于它与其他分子的特异相互作用，包括蛋白质和蛋白聚糖——

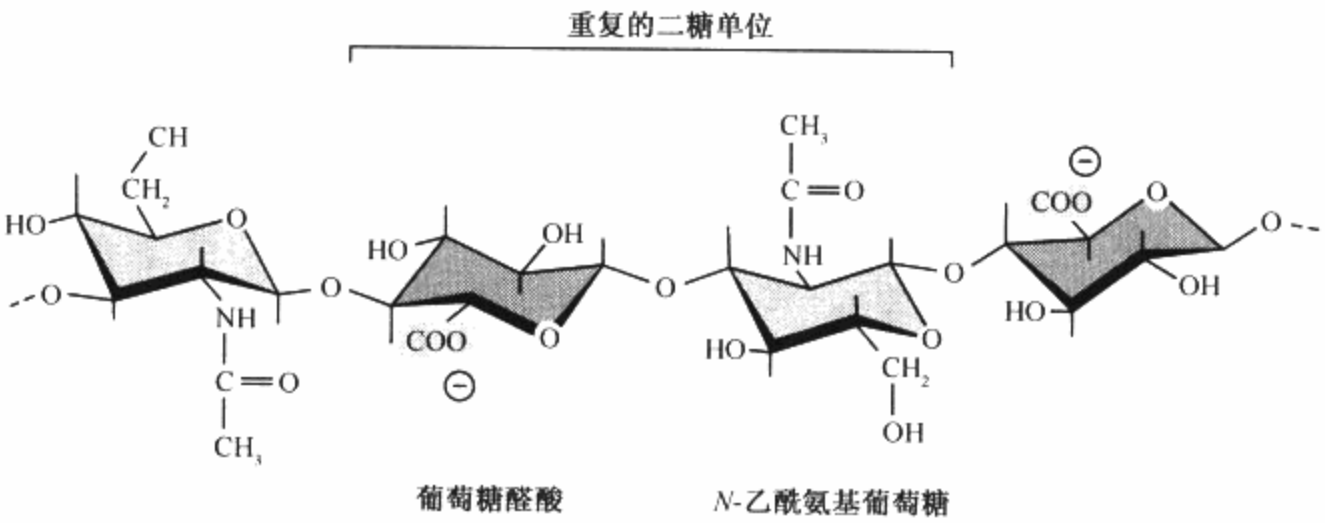


图 19-38　透明质素中的重复二糖序列，一个相对简单的 GAG

这种在脊椎动物中普遍存在的分子，由一个多达 25 000 个糖分子的长链组成。注意这里没有硫酸基团

共价连接某种蛋白质的 GAG 链组成的分子。一些与透明质素结合的分子是细胞外基质的组成成分，而其他的则是细胞表面的整合成分。

GAG 链与核心蛋白共价连接形成蛋白聚糖

除透明质素外，所有的 GAG 都与蛋白质共价附着，以蛋白聚糖的形式存在，**蛋白聚糖**是由大部分动物细胞产生的。蛋白聚糖的多肽链，或者核心蛋白（core protein）是由膜结合核糖体合成并运进内质网内腔。多聚糖链主要在高尔基体中被装配到核心蛋白上。首先，一个专一的连接四糖（link tetrasaccharide）连接到核心蛋白的丝氨酸残基上，作为多糖链合成的引子；然后，在专一性糖基转移酶作用下，一个个糖基被依次加接上去（图 19-39）。当还在高尔基体中时，聚糖中许多糖基通过一系列相应的反应被共价修饰。差向异构作用改变糖分子中单个碳原子周围取代基的结构；硫酸盐化作用增加负电荷。

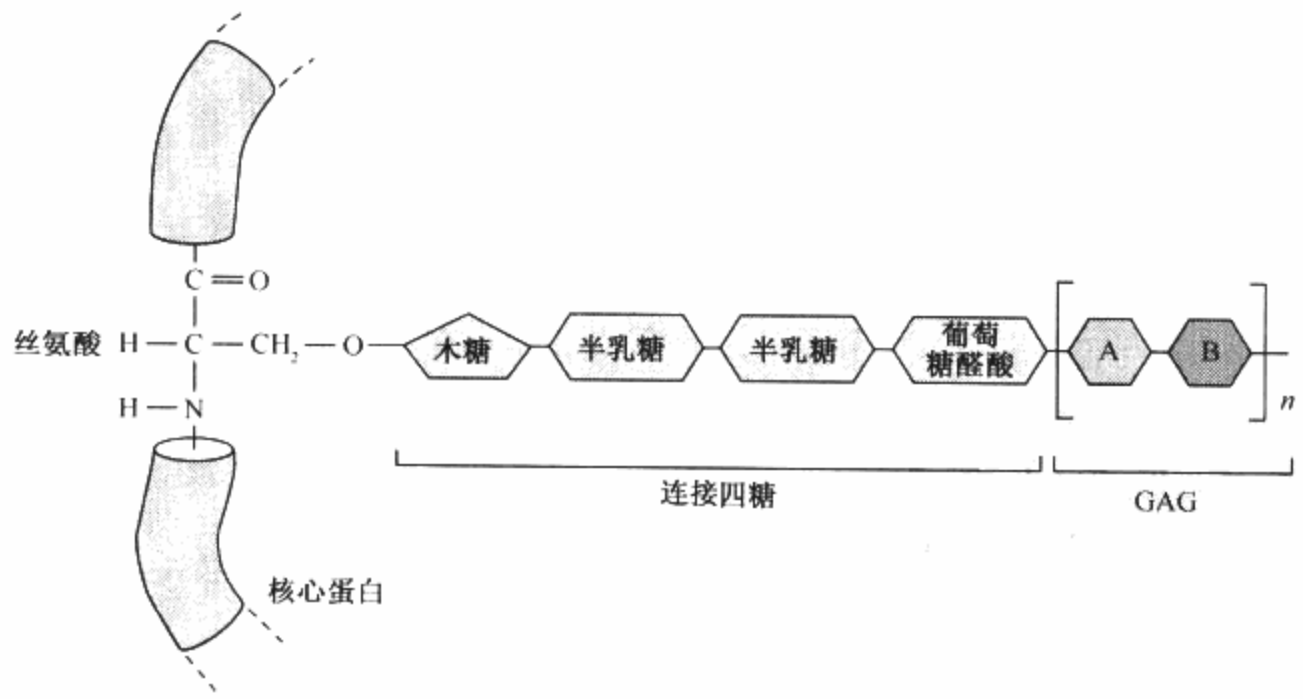


图 19-39　GAG 链与蛋白聚糖分子中核心蛋白的连接

首先在丝氨酸侧链上装配一特异的四糖连接。在多数情况下，特定的丝氨酸是如何选择的不太清楚，好像是通过识别多肽链的局部构造，而不是识别特异的氨基酸序列。然后，主要由重复的二糖单位组成的其余的 GAG 链，通过每次加上一个糖分子来合成。在硫酸软骨素中，二糖由 D-葡萄糖醛酸和 *N*-乙酰-D-半乳糖胺组成；在硫酸类肝素中，它是由 D-葡萄糖胺（或者艾杜糖醛酸）和 *N*-乙酰-D-葡萄糖胺组成的；在硫酸角质素中，它是由 D-半乳糖和 *N*-乙酰-D-葡萄糖胺组成的

透明质素可以根据它们糖侧链的种类、含量和排列容易地与其他糖蛋白区分。定义糖的蛋白聚糖侧链中至少有一个为 GAG。然而，碳水化合物占了糖蛋白重量的 11%～60%，这些碳水化合物以大量相对较短的、分支的寡聚糖链形式存在的。碳水化合物可以占糖蛋白重量的 95%以上，大部分是以长的、不分支的 GAG 链形式存在的，每条典型链大约 80 个糖基长。蛋白聚糖可以是非常大的，如软骨集合聚糖（aggrecan），这是软骨的主要组分，分子质量可达 3×10^6 Da，有超过 100 个 GAG 链。其他蛋白聚糖很小，只有 1～10 个 GAG 链，如核心蛋白聚糖（decorin），它由成纤维细胞分泌，并且只有一个 GAG 链（图 19-40）。

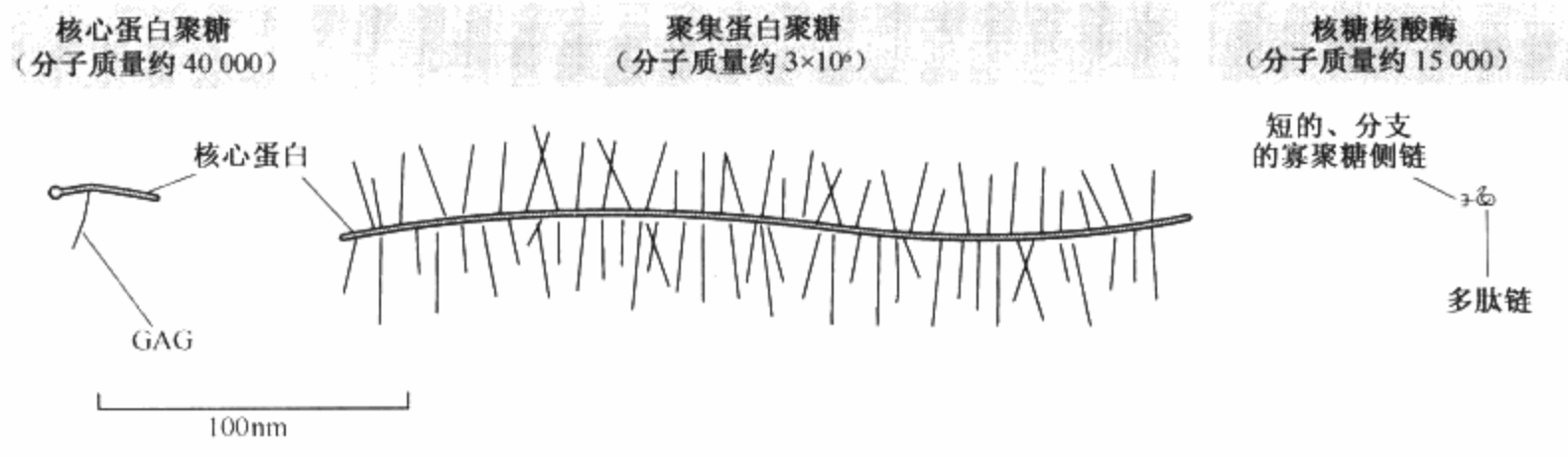


图 19-40　在细胞外基质中发现的小的（核心蛋白聚糖）和大的（聚集蛋白聚糖）蛋白聚糖的例子

这两种蛋白聚糖都与一种典型的分泌糖蛋白分子（胰腺核糖核酸酶 B）相比较。三个都是按比例画的。聚集蛋白聚糖和核心蛋白聚糖的核心蛋白都含有寡聚糖链和 GAG 链，但在图中没有显示。聚集蛋白聚糖由大约 100 个硫酸软骨素链和 30 个硫酸角质素链组成，其中后者与大约有 3000 个氨基酸残基的富含丝氨酸的核心蛋白相连。核心蛋白聚糖“装饰”胶原原纤维的表面，故名

原则上，蛋白聚糖具有无限异构的潜力。即使是同一类型的核心蛋白，也可以在附着 GAG 链的数量和种类上有很大的改变。此外，在每个 GAG 链中潜在的二糖重复模式，可以通过硫酸基团的复杂模式进行修饰。异质 GAG 使根据它们的糖基进行蛋白聚糖分类和鉴别变得困难。借助于 DNA 重组技术，已经确定了许多核心蛋白的序列，并且它们也是非常多变的。虽然已经鉴别了一些小家族，但是还没有共同的结构特征能明确地区分蛋白聚糖核心蛋白和其他的蛋白质，而且许多核心蛋白有一个或多个与细胞外基质或质膜中的蛋白质同源的结构域。因此，把蛋白聚糖看作是多样化的高度糖基化的糖蛋白，而糖蛋白的功能是由它们的核心蛋白和它们的 GAG 链共同介导的，大概是最好的。

蛋白聚糖可以调节分泌蛋白的活性

基于蛋白聚糖分子结构的多样性和含量的丰富性，如果它们的功能仅局限于为细胞提供含水的空间，将会是令人惊讶的。例如，它们的 GAG 链可以形成各种孔径大小和电荷密度的凝胶；因此，一个可能的功能就是作为一个选择筛，它可以根据分子和细胞的大小和电荷来调节它们的流通。有证据表明，被称为基底膜蛋白聚糖（perlecan）的硫酸类肝素蛋白多糖，在肾小球基膜有这样的功能，可以过滤从血液进入尿液中的分子（在下面讨论）。

一般认为蛋白聚糖在细胞间化学信号转导中起重要作用。它们结合各种分泌的信号分子，如某些蛋白质生长因子，能够增强或者抑制它们的信号活性。例如，蛋白聚糖的硫酸类肝素链与可以刺激多种细胞增殖的成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor，*FGF*）结合，这种相互作用使生长因子分子寡聚化，增强它们的交联和激活它们的细胞表面受体，这些受体一般为跨膜酪氨酸激酶［图 15-50（B）］。然而，在大多数情况下，信号分子与蛋白聚糖的

GAG 链结合，但不总是这样。转移生长因子 β（TGF-β）家族的一些成员与几个基质蛋白聚糖（包括核心蛋白聚糖）的核心蛋白结合；结合到核心蛋白聚糖上可以抑制生长因子的活性。

蛋白聚糖也与其他类型的分泌蛋白结合，包括蛋白水解酶（蛋白酶）和蛋白酶抑制剂，并调节它们的活性。蛋白聚糖通过以下几种途径调节分泌蛋白的活性：①使其分泌蛋白迁移受阻，限制它的作用范围；②位阻抑制蛋白质的活性；③提供蛋白质储蓄库，延缓其释放；④保护蛋白质免受蛋白水解酶的降解，延长它的作用时间；⑤改变或提高蛋白质浓度，使其对细胞表面的受体作用更有效。

蛋白聚糖通过上面所有的方式发挥作用，调节分泌蛋白的活性。最后一个功能的例子发生在炎症反应中，硫酸类肝素蛋白聚糖通过这种方式把被称为皱化因子的趋化引诱剂（在第 24 章讨论）固定在血管内表面的发炎位点处。以这种方式，皱化因子可以在那里保持较长的时间，刺激白细胞离开血液，迁移到炎症组织中。

在细胞外基质中，GAG 链可能是高度组织化的

在细胞外基质中，GAG 和蛋白聚糖可以结合形成巨大的聚合复合物。例如，软骨中的主要蛋白聚糖聚集蛋白聚糖分子（图 19-40），与细胞外空间的透明质素装配，形成和细菌一般大小的聚合体（图 19-41）。

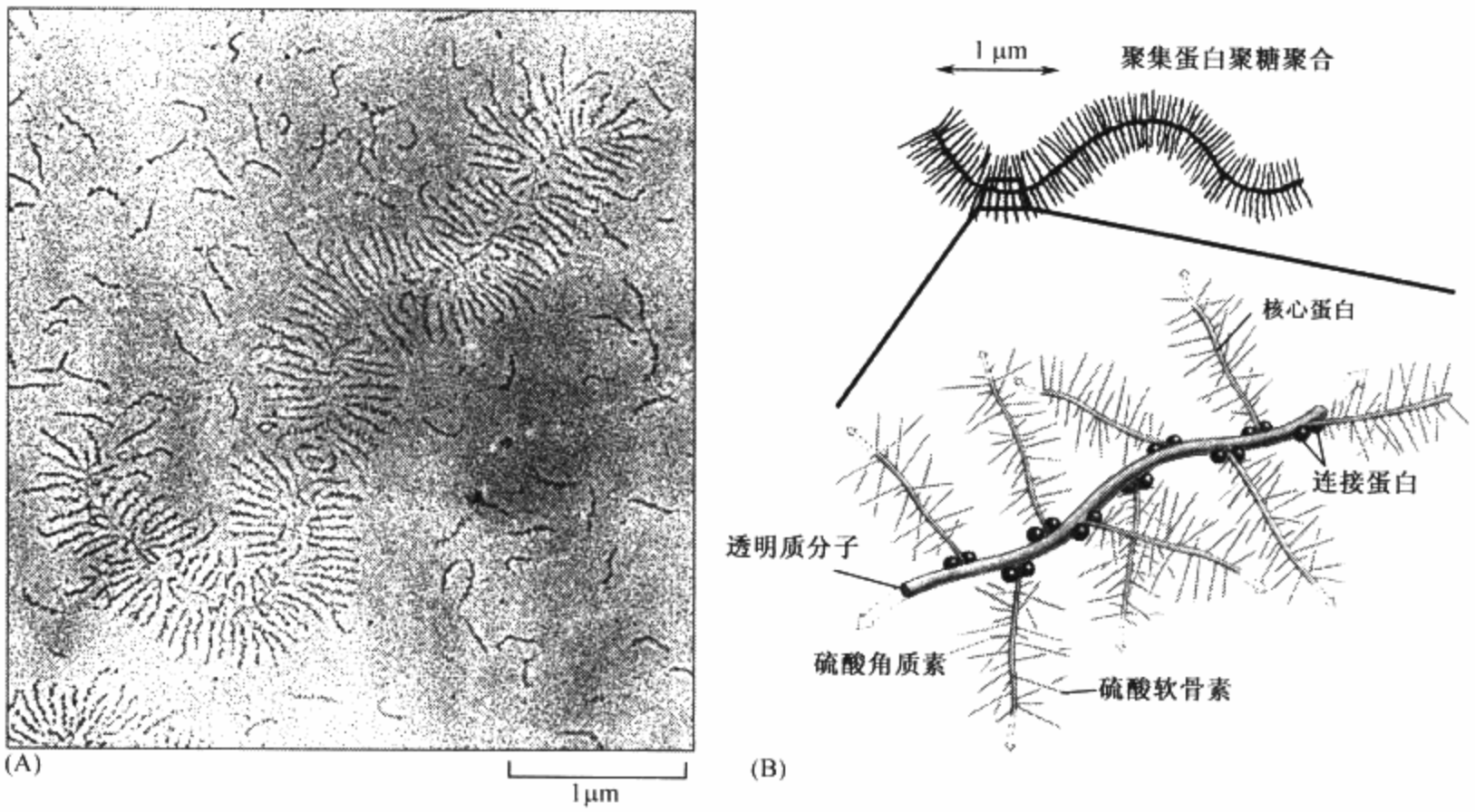


图 19-41　婴儿软骨中聚合的聚集蛋白聚糖

（A）用铂显影的聚集蛋白聚糖电镜照片。许多自由的聚集蛋白聚糖分子也可以看到。（B）图（A）中所示的大的聚集蛋白聚糖分子的示意图。它由约 100 个聚集蛋白聚糖单体（每个类似于图 19-40 所示的单体）通过两个结合蛋白聚糖的核心蛋白和透明质素链的连接蛋白，非共价键地与单个透明质素链相连组成，因此稳定了聚集。连接蛋白是透明质素结合蛋白家族中的成员，其中一些为细胞表面蛋白。这种复杂分子的相对分子质量可达 10^8 或更大，并且占据和细菌一样大小的空间，大约 2×10^{-12} cm^3［（A）经 Lawrence Rosenberg 许可］

此外，GAG 和蛋白聚糖除了彼此结合外，还可以与基质纤维蛋白，如胶原结合，还有蛋白质网状结构，如基膜结合，形成极其复杂的结构。核心蛋白聚糖与胶原原纤维结合，对于胶原纤维的形成是重要的；不能产生核心蛋白聚糖的鼠，具有极脆的皮肤，抗张力能力降低

很多。活组织中蛋白聚糖的排列一般是很难确定的。因为这些分子是高度溶于水的，在固定的过程中，当组织片段暴露于水溶液中，这些分子可能从细胞外基质中洗去。另外，pH、离子浓度或渗透压的改变，可以彻底地改变它们的结构。因此，必须使用特殊的方法在组织中来显现出它们（图 19-42）。

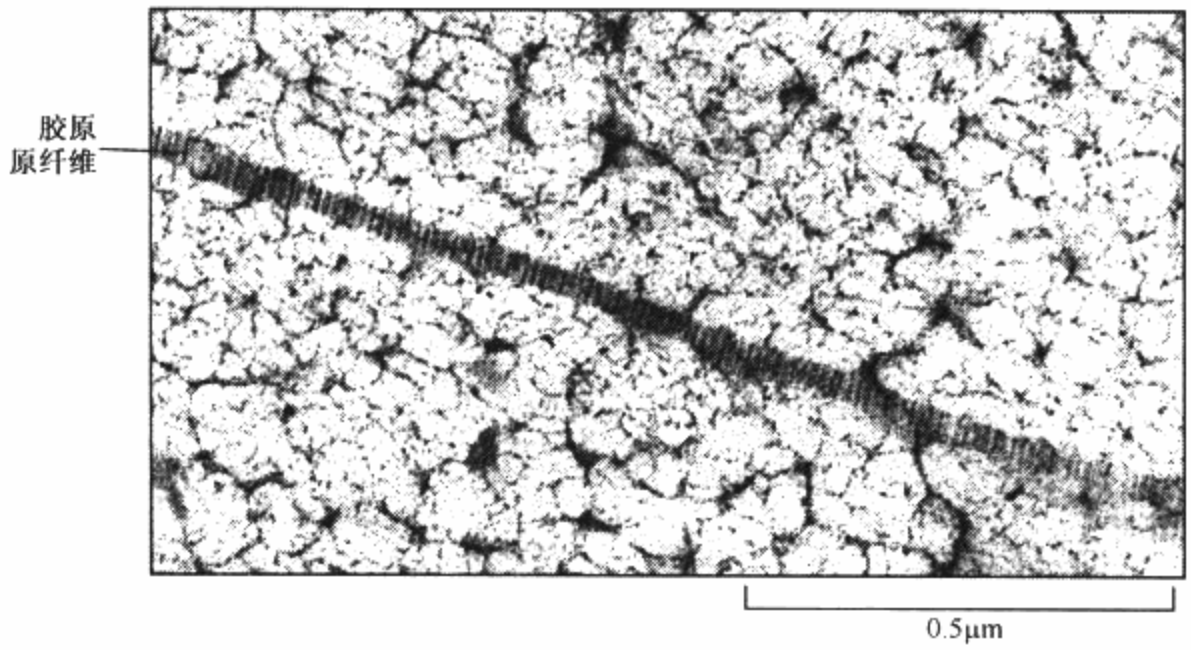


图 19-42　鼠软骨细胞外基质中的蛋白聚糖

这个组织在－196°C 迅速冻存，然后固定和染色（所谓的冰冻置换过程），以防止 GAG 链的损坏。在这张电镜照片中，蛋白聚糖分子形成了细丝网状，单个的有条纹的胶原原纤维分子植入其中。深染的部分是核心蛋白；淡染的丝是 GAG 链（仿于 E. B. Hunziker and R. K. Schenk, *J. Cell Biol.* 98：277～282，1985. © The Rockefeller University Press.）

细胞表面的蛋白聚糖作为辅助受体发挥作用

不是所有的蛋白聚糖都是细胞外基质的分泌成分。它们中有一些为质膜的结合成分，它们的核心蛋白或者穿过质双层，或者通过葡糖磷脂酰肌醇（glycosylphosphatidylinositol，GPI）附着在质双层上。一些质膜蛋白聚糖作为辅助受体与常规的细胞表面受体共同作用，把细胞连接在细胞外基质上，并且起始细胞对细胞外信号蛋白的应答。另外，一些常规的受体含有一个或多个 GAG 链，因此它们也是蛋白聚糖。

研究最清楚的质膜蛋白聚糖是多配体蛋白聚糖（syndecan），它含有一个跨膜核心蛋白。这些跨膜蛋白聚糖的细胞外结构域有多达三个硫酸软骨素和硫酸类肝素 GAG 链，而其细胞内结构域则被认为与细胞皮层中的肌动蛋白细胞骨架相互作用。

多配体蛋白聚糖位于许多类型细胞的表面，包括成纤维细胞和上皮细胞，它们在这两种细胞表面上作为基质蛋白受体发挥作用。在成纤维细胞中，多配体蛋白聚糖可以存在于黏着斑中，在这里它通过与细胞表面的纤黏着蛋白、细胞内的细胞质骨架蛋白和信号蛋白相互作用，调节整联蛋白的功能。多配体蛋白聚糖也与 FGF 结合，并且把它们呈现给同一细胞上的 FGF 受体。同样地，另外一个质膜蛋白聚糖，被称为 β-多聚糖（betaglycan），与 TGF-β 结合，并且把它呈现给 TGF-β 受体。

蛋白聚糖作为辅助受体的重要性，可以通过严重的发育缺陷来阐明。当突变使特定的蛋白聚糖失活时，胚胎发育就会出现严重缺陷。例如，在果蝇中，分泌信号蛋白 wingless 的信号转导依赖于这个蛋白质与靶细胞上被称为 Dally 的硫酸类肝素蛋白聚糖辅助受体结合。在缺乏 Dally 的突变体果蝇中，wingless 信号转导失败，导致与 *wingless* 基因自身突变产生的一样的严重发育缺陷。在某些组织中，Dally 的失活也可以抑制通过一个分泌蛋白的信号转

导，这个分泌的蛋白质是被称为 Decapentaplegic（DPP）的 TGF-β 家族成员。

本章讨论的一些蛋白聚糖，在表 19-4 中进行了总结。

表 19-4　一些常见的蛋白多糖

蛋白多糖	核酸蛋白大致分子量	GAG 链类型	GAG 链的数量	位置	功能
Aggrecan	210 000	硫酸软骨素＋硫酸角质素	～130	软骨	机械支撑；和透明质烷形成大块凝聚物
Betaglycan	36 000	硫酸软骨素	1	细胞表面和基质	结合 TGF-β
Decorin	40 000	硫酸皮肤素	1	广泛分布于结缔组织	结合工类胶原原纤维和 TGF-β
Perlecan	60 000	硫酸乙酰肝素	2～15	基片	基片中结构和过滤功能
Syndecan-1	32 000	硫酸软骨素＋硫酸乙酰肝素	1～3	上皮细胞表面	细胞粘连，结合 FGF 及其他生长因子
Dally(in *Drosophila*)	60 000	硫酸乙酰肝素	1～3	细胞表面	Wingless 和 Decapentaplegic 信号蛋白的共受体

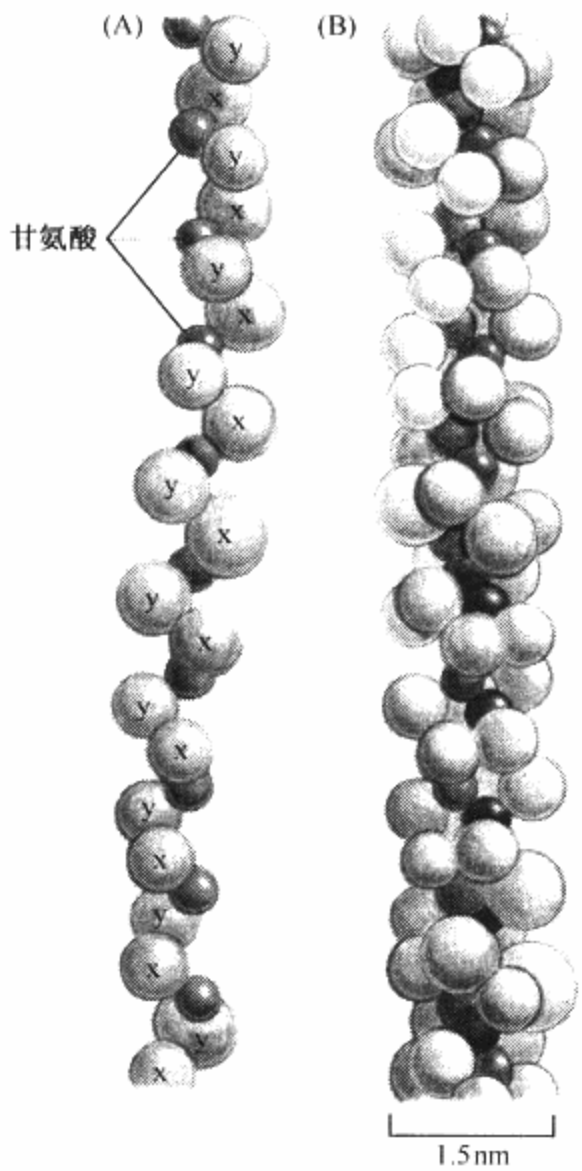


图 19-43　典型胶原分子的结构

(A) 单个胶原 α 链的模型，每个球代表一个氨基酸。这条链大约 1000 个氨基酸长，为左手螺旋，三个氨基酸残基一圈，每三个就有一个甘氨酸。因此，α 链是由 Gly-X-Y 重复序列形成的，X 和 Y 代指任何氨基酸残基。(B) 三条 α 链的胶原分子模型。每条链用不同的颜色表示，三条链互相缠绕成三股螺旋棒。甘氨酸是唯一的小到足以占据三股螺旋拥挤的内部空间的氨基酸。这里只显示了很短的一部分，整个分子可长达 300nm（由 B. L. Trus 绘制）

胶原是细胞外基质中主要的蛋白质

胶原是在所有的多细胞动物中发现的一个纤维蛋白家族。它们是由结缔组织细胞分泌的，也可由其他多种类型细胞分泌产生。作为皮肤和骨头的一个主要成分，它们是哺乳动物中最丰富的蛋白质，约占这些动物蛋白总量的 25%。

典型的胶原分子的主要特征是：具有长的、坚硬的和三股螺旋链的结构，在这个结构中，三条胶原多肽链被称为 α 链，它们彼此围绕形成绳状的超螺旋（图 19-43）。胶原富含脯氨酸和甘氨酸，这两种氨基酸在三股螺旋链结构的形成中是非常重要的。脯氨酸的环形结构可以稳定每个 α 链的螺旋构型，而在 α 链的中心，每隔三个氨基酸残基就会有规律地出现一个甘氨酸。作为最小的氨基酸（只有一个氢原子作为侧链），甘氨酸允许三股 α 螺旋链紧密地包装在一起，形成胶原超螺旋结构（图 19-43）。

到目前为止，大约已经鉴定了 25 种不同的胶原 α 链，每条链都由单独的基因编码。在不同的组织中，这些基因进行不同的组合表达。虽然原则上，由 25 种 α 链的不同组合可以形成大约超过 10 000 种胶原三螺旋分子，但是现在只发现了大约 20 种胶原分子。结缔组织中，胶原的主要类型为：Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅴ和Ⅺ型，Ⅰ型是皮肤和骨头中最重要的胶原，也是迄今为止最常见的胶原。这些是**纤丝胶原**，或者是纤丝形成胶原，具有绳状结构，见图 19-43。分泌到细胞外空间后，这些胶原分子装配成高度有序的聚合体，被称为胶原原纤维（collagen fibril），其具有细小的结构（直径 10～300nm），在成熟组织中有几百微米长，在电镜下清晰可

见（图 19-44，另见图 19-42）。胶原原纤维经常聚集成大的、缆索状束，直径几微米，在光镜下就能看到。

图 19-44　在鸡胚胎皮肤结缔组织中，成纤维细胞周围的胶原原纤维

这张电镜照片中，原纤维已以近似直角相互交错成束。因此，所看到的原纤维束，有的是纵截面，有的是横截面。胶原原纤维由成纤维细胞产生，成纤维细胞含有丰富的内质网，可以合成胶原等分泌蛋白（摘自 C. Ploetz，E. I. Zycband，and D. E. Birk，*J. Struct. Biol.* 106：73～81，1991. © Academic Press.）

Ⅸ和Ⅻ型胶原被称为原纤维结合胶原（fibril-associated collagen），因为它们装饰在胶原原纤维的表面。它们的作用是把原纤维结合成束，并与细胞外基质中的其他成分相连接。Ⅳ和Ⅶ型为网络形成胶原（network-forming collagen）。Ⅳ型分子装配成网状或片状结构，是基膜的主要成分，而Ⅶ型分子形成二聚体，装配成锚定原纤维（anchoring fibril）。锚定原纤维将多层上皮细胞的基膜与下方的结缔组织连接起来，因而在皮肤中尤其丰富。

这里也有大量的“类胶原”（collagen-like）蛋白，包括ⅩⅦ型，它有一个跨膜结构域，发现于半桥粒中，而ⅩⅧ型定位在血管的基膜中。剪切ⅩⅧ型胶原的 C 端结构域就形成被称为内皮抑素（endostatin）的多肽，它可以抑制新血管的形成，因此被作为一种抗癌药物进行研究。本章中讨论的一些胶原类型在表 19-5 中列出。

表 19-5　一些胶原类型及其特性

	类型	分子式	聚合形式	组织分布
纤维形成	Ⅰ		纤维	骨、皮肤、腱、韧带、角膜、内部器官（占 90%的身体胶原）
	Ⅱ		纤维	软骨、无脊椎盘、脊索、眼玻璃体
	Ⅲ		纤维	皮肤、血管、内部器官
	Ⅴ		纤维（与Ⅰ型一起）	与类型Ⅰ相同
	Ⅺ		纤维（与Ⅱ型一起）	与类型Ⅱ相同
与纤维结合	Ⅸ		与类型Ⅱ纤维横向连接	软骨
	Ⅻ		与某些类型Ⅰ纤维横向连接	腱、韧带、某些其他组织
网络形成	Ⅳ		片状网络	基底膜
跨膜	ⅩⅦ		未知	
其它	ⅩⅧ		未知	血管周围的基底膜

注：类型Ⅰ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅸ和Ⅺ是由两种或三种 α 链组成的，而类型Ⅱ、Ⅲ、Ⅶ、Ⅻ、ⅩⅦ和ⅩⅧ是由一种 α 链组成的，但目前已鉴定出约 20 种胶原和约 25 种 α 链。

许多蛋白质都含有氨基酸重复模式，是由 DNA 序列重复进化而来，胶原原纤维显然也是通过这方式产生的。因此，编码大部分胶原 α 链的基因都是很大的（可达到 44kb），含有大约 50 个外显子。这些外显子大部分是 54 核苷酸长，或者 54 核苷酸的整数倍长，暗示着这些胶原基因是由含有 54 个核苷酸的原始基因经过多轮扩增产生的（图 19-43），这些原始基因编码 6 个 Gly-X-Y 重复单位。

胶原分泌时，在每个末端有非螺旋化的延伸

胶原分子的多肽链是在与内质网膜结合的核糖体中合成的，然后作为前体大分子进入内质网腔，成为前 α 链（pro-α chain）。这些前体分子除在氨基末端具有信号肽外，它们在氨基端和羧基端还具有被称为前肽（propeptide）的氨基酸附加序列。在内质网腔中，脯氨酸和赖氨酸残基有选择性地被羟化为羟脯氨酸和羟赖氨酸，并且有的羟赖氨酸被糖基化。然后，每个前 α 链与其他两个结合，形成氢键连接的三螺旋原骨胶原（procollagen）分子。

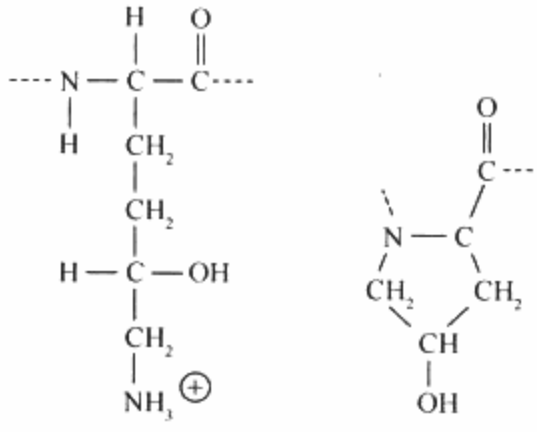


图 19-45　羟基赖氨酸和羟基脯氨酸

这些修饰氨基酸在胶原中很常见。它们在赖氨酸和脯氨酸掺入前胶原分子后，由酶催化形成

虽然羟脯氨酸在一些植物细胞壁蛋白中很丰富，但是羟赖氨酸和羟脯氨酸（图 19-45）在其他动物蛋白中很少见到。在胶原中，这些氨基酸的羟基形成链间的氢键以稳定三链螺旋结构。阻止脯氨酸羟基化的情况下，如缺乏抗坏血酸维生素 C（维生素 C），将会产生严重的后果。19 世纪之前，由于饮食中缺少维生素 C 造成的坏血病在海员中是很常见的，在这些病人中，合成的有缺陷的前 α 链不能形成稳定的三螺旋结构，并且在细胞中很快降解。因此，随着基质中原先存在的正常胶原的逐渐丢失，血管变的非常脆弱，而牙齿在牙槽中变得松动，暗示着在这些组织中，胶原的降解和替换相对较快。然而，一般认为在成人其他组织中，胶原（和其他细胞外基质大分子）的代谢很慢。举一个极端的例子，骨头中的胶原分子在它们被降解和替换之前，可以存在十年。相反，许多细胞蛋白的半衰期只有几个小时到几天。

分泌后，纤丝前胶原分子被剪切为胶原分子，然后装配成胶原原纤维

前胶原被分泌到细胞外后，前肽序列被专一的蛋白质水解酶切除。这个过程把前胶原分子转变成了胶原分子，然后在细胞外空间进一步装配成更大的**胶原原纤维**。前肽至少有两个功能。首先，它们引导细胞内三链胶原分子的形成；其次，因为它们只在分泌后被切除，它们阻止了在细胞内形成对细胞有危害的大胶原原纤维分子。

胶原原纤维的形成部分地由胶原分子的趋向推动进行自装配，胶原分子的可溶性比前胶原小了 1000 倍。细胞表面的分泌泡进行融合，可使细胞质膜向内形成深陷的凹槽，凹槽中的胶原分子沿凹槽的细胞表面装配成胶原纤维。质膜下方的细胞骨架对原纤维的装配部位、速率和方向都具有一定的影响。

在电镜下观察原胶原原纤维，可以看到每隔 67nm 的特征性横纹，反映出原纤维中单个胶原分子的规则交错排列。在细胞外空间原纤维形成后，胶原分子通过在其上赖氨酸之间的共价交联加固原纤维结构（图 19-46）。这种共价化合键仅仅发现在胶原和弹性蛋白中。如果抑制共价交联，原纤维的强度会显著下降，胶原组织变得脆弱，而皮肤、肌腱和血管等组织

变得容易破裂。交联的类型和程度随不同组织而不同。例如，在跟腱中，胶原尤其高度交联，因为这里抗张力的强度是至关重要的。

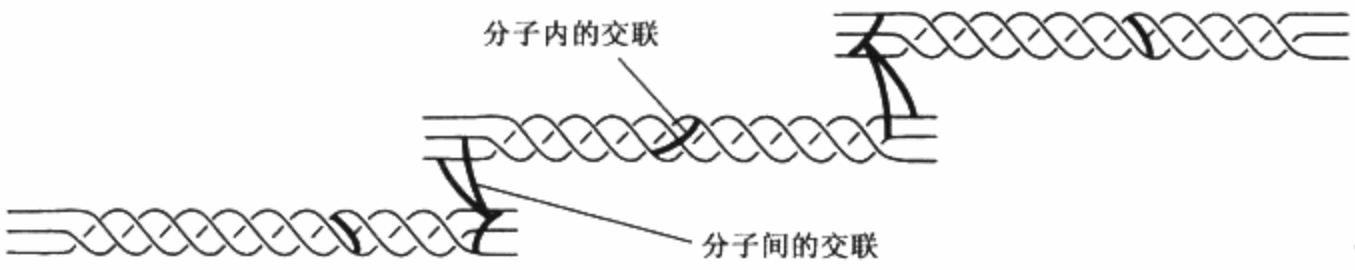


图 19-46　在胶原原纤维中，修饰后的赖氨酸链之间形成交联

分子内或分子间的共价交联经过几步形成。首先，某些赖氨酸和羟基赖氨酸在细胞外赖氨酰基氧化酶作用下发生脱氨基，形成高活性的醛基。醛基然后自发反应，彼此之间或与其他的赖氨酸或羟基赖氨酸之间形成共价键。大部分交联在每个胶原分子末端非螺旋片段之间形成

图 19-47 总结了胶原原纤维合成和装配的各个步骤。既然这个过程包括了大量的酶反应步骤，那么人类中有很多影响原纤维形成的基因病也就不奇怪了。影响Ⅰ型胶原的突变会导致成骨不全（osteogenesis imperfecta），以骨变得脆弱、容易骨折为特征；影响Ⅱ型胶原突变的基因导致软骨发育不良（chondrodysplasias），以形成异常软骨进而形成骨和关节畸形为特征；影响Ⅲ型胶原的突变导致 Ehlers-Danlos 综合征（Ehlers-Danlos syndrome），以皮肤和血管脆弱、关节过于伸展为特征。

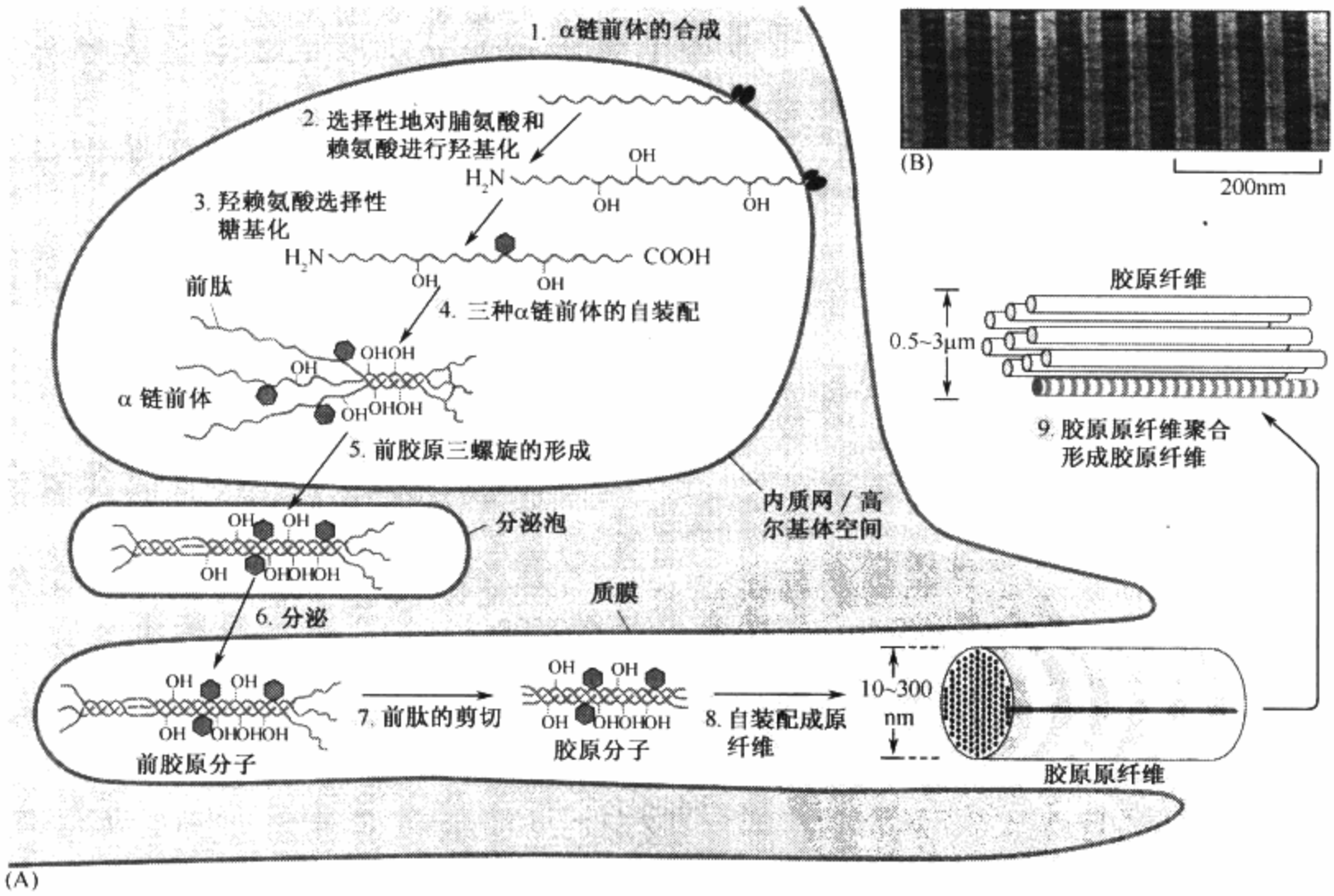


图 19-47　在胶原原纤维形成过程中进行的细胞内和细胞外事件

（A）注意：胶原原纤维在细胞质膜向内形成深陷凹槽的细胞外空间进行装配。作为胶原原纤维如何在细胞外空间规则地排列的一个例子，图中显示了它们进一步装配成可以在光镜下看到的大胶原纤维。没有显示稳定细胞外装配的共价交联。（B）胶原负染色电镜照片显示了它典型的条纹外观［（B），经 Robert Horne 许可］

与原纤维结合的胶原有助于原纤维的组织装配

与抵抗压力 GAG 相反，胶原原纤维形成抵抗张力的结构。不同组织中的原纤维具有不同的直径，并且以不同的方式进行装配。例如，在哺乳动物皮肤中，它们以枝编工艺模式编织，因此可以抵抗多个方向的张力。在腱中，它们以平行的束沿着张力轴排列。在角膜和成熟的骨头中，它们以夹板状层有序排列，在每夹板层中原纤维平行排列，而与相邻的夹板层中，原纤维基本垂直。它们在蝌蚪皮肤中有相同的排列方式（图 19-48）。

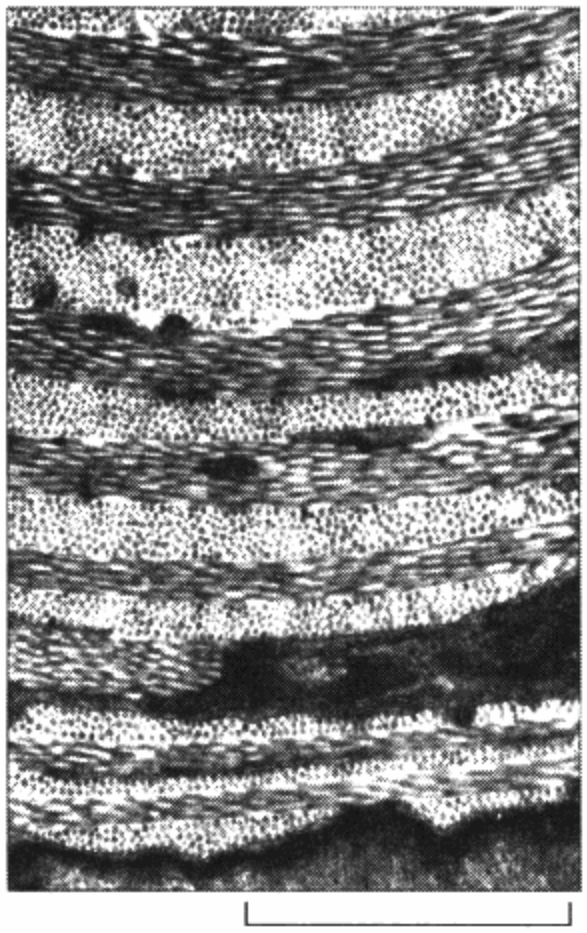


图 19-48　蝌蚪皮肤中的胶原原纤维
这个电镜照片显示了原纤维的夹板状排列。相邻原纤维层彼此近乎垂直排列。这种组织在成熟骨头和角膜中也有发现（经 Jerome Gross 许可）

结缔组织细胞必须自己决定胶原原纤维的大小和排列。这些细胞可以为不同类型的原胶原分子表达一种或多种基因。但是，即使是由相同的原纤维胶原分子组成的原纤维，在不同的组织中有也有不同的排列方式。这是如何实现的呢？部分答案是：分泌后，细胞可以通过引导与质膜紧密结合的胶原原纤维形成，来调节胶原分子的部署（图 19-46）。另外，胶原原纤维的空间装配至少部分反映了它们与基质中其他分子的相互作用，细胞可以通过沿着胶原原纤维分泌不同类型和数量的其他基质大分子，以影响它们的组织装配。

原纤维结合胶原（fibril-associated collagen），如Ⅸ和Ⅻ型胶原，被认为在这方面尤其重要。它们在几个方面与原纤维胶原不同。

1. 它们的三链螺旋结构被一个或两个短的非螺旋区域隔开，这样使这些分子比原纤维胶原更具柔韧性。

2. 它们分泌后不被剪切，因此一直保留着它们的前肽。

3. 在细胞外空间，它们不会彼此聚合形成原纤维，而是周期性地结合在有原纤维胶原形成的原纤维的表面。Ⅸ型胶原分子结合在软骨、角膜和眼睛晶状体中含有Ⅱ型胶原的原纤维上（图 19-49），而Ⅻ型分子结合在腱和其他各种组织中含有Ⅰ型胶原的原纤维上。

一般认为原纤维结合胶原介导胶原原纤维间和胶原原纤维与其他基质大分子间的相互作用。它们以这种方式在决定基质中原纤维的装配中起着作用。

细胞帮助胶原原纤维进行装配，它们通过向基质施加压力分泌产生

细胞与细胞外基质进行机械的和化学的相互作用，对组织的结构产生巨大的影响。例如，成纤维细胞影响它们所分泌的胶原，在其上爬行并对它产生牵引力，帮助形成片层和聚集成束。在培养皿中，当成纤维细胞与随机排列的胶原原纤维形成的凝胶网络混合时，这些细胞会对网络施加拉力，从细胞周围牵拉胶原，因此导致凝胶收缩成原来体积的一小部分。通过相似的机制，一簇成纤维细胞用致密包装和环绕定向的胶原纤维外壳将自己包围起来。

如果把两小片含有成纤维细胞的胚胎组织放置在相距胶原凝胶很远的地方，在两组织间

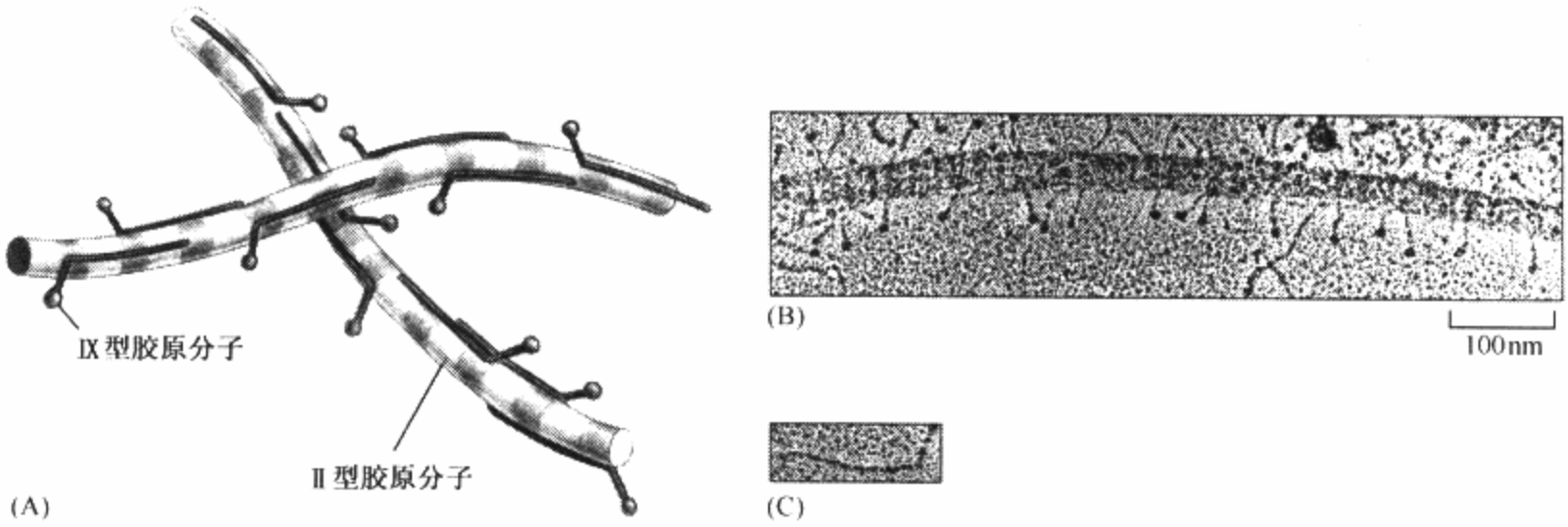


图 19-49　Ⅸ型胶原

（A）Ⅸ型胶原分子以周期的模式结合到含有Ⅱ型胶原分子的原纤维表面。（B）软骨中含有Ⅱ型胶原（圆柱阴影部分）的原纤维的电镜照片，Ⅸ型胶原分子为鞘状。（C）单个Ⅸ型胶原分子。（B和C，摘自于L. Vaughan et al.，*J. Cell Biol.* 106：991～997，1988. © The Rockefeller University Press）

胶原就会形成胶原纤维密集带，将这两个组织连接起来（图 19-50）。成纤维细胞随后沿着胶原纤维带迁移出组织。因此，成纤维细胞影响胶原原纤维的排列，胶原原纤维反过来影响成纤维细胞的分布。成纤维细胞在人体细胞外基质中产生长期有序的结构，这些结构大概具有相似的功能。例如，帮助形成腱、韧带和包裹固定大部分器官的坚硬致密的结缔组织层。

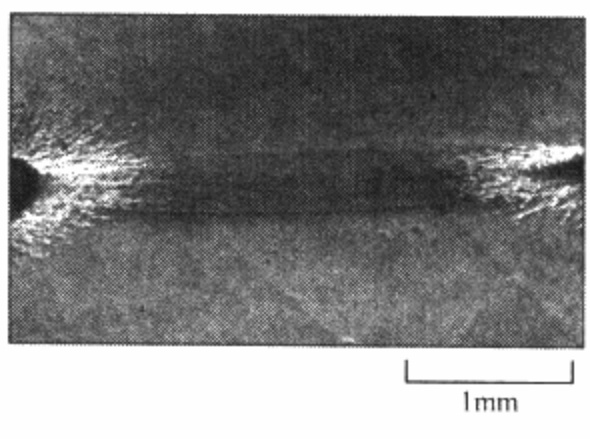


图 19-50　细胞外基质的形状

鸡胚心脏（富含成纤维细胞和心肌细胞）在富含胶原的培养液中培养 4d 之后，显微照片示两片心脏之间的区域，形成胶原纤维密集带，推测可能是因为成纤维细胞对于胶原纤维的拉动（摘自 D. Stopak and A. K. Harris，*Dev. Biol.* 90：383～398，1982. © Academic Press）

弹性蛋白赋予组织以弹性

为了行使功能，许多脊椎动物的组织，如皮肤、血管和肺，需要既坚固又具有弹性。组织中细胞外基质里的**弹性纤维（elastic fiber）**网络给了它们弹力，组织因此在短暂的伸展之后可以回缩（图 19-51）。弹性纤维比橡皮圈的伸展性至少大 5 倍。长的、无弹性胶原原纤维与弹性纤维交织在一起，限制组织过度伸展并防止组织破裂。

弹性纤维的主要成分是**弹性蛋白（elastin）**，它是一种高度疏水蛋白（大约 750 个氨基酸长），和胶原一样，通常富含脯氨酸和甘氨酸，但是和胶原不一样的是，它不被糖基化，并且含有一些羟脯氨酸而不含有羟赖氨酸。可溶性弹性蛋白原（tropoelastin）（弹性蛋白的合成前体）被分泌到细胞外空间，在质膜附近装配成弹性纤维，一般在细胞表面凹陷处。分泌后，弹性蛋白原分子就彼此高度交联，产生广阔的弹性蛋白网络和片层。交联在赖氨酸之间形成，通过一种与我们前面讨论过的胶原分子交联形成相似的机制。

弹性蛋白主要由两种沿着多肽链交替出现的短片段组成：负责弹性蛋白弹性的疏水片段；和富含丙氨酸和赖氨酸的、在相邻分子之间形成交联的 α 螺旋片段。每个片段都是由单独的外显子编码的。然而，关于弹性纤维中弹性蛋白的构象和弹性纤维如何具有橡胶一样的特性，还有争论。一种观点是：弹性蛋白多肽链和普通橡胶中多聚链一样，采取松散的“随机缠绕”

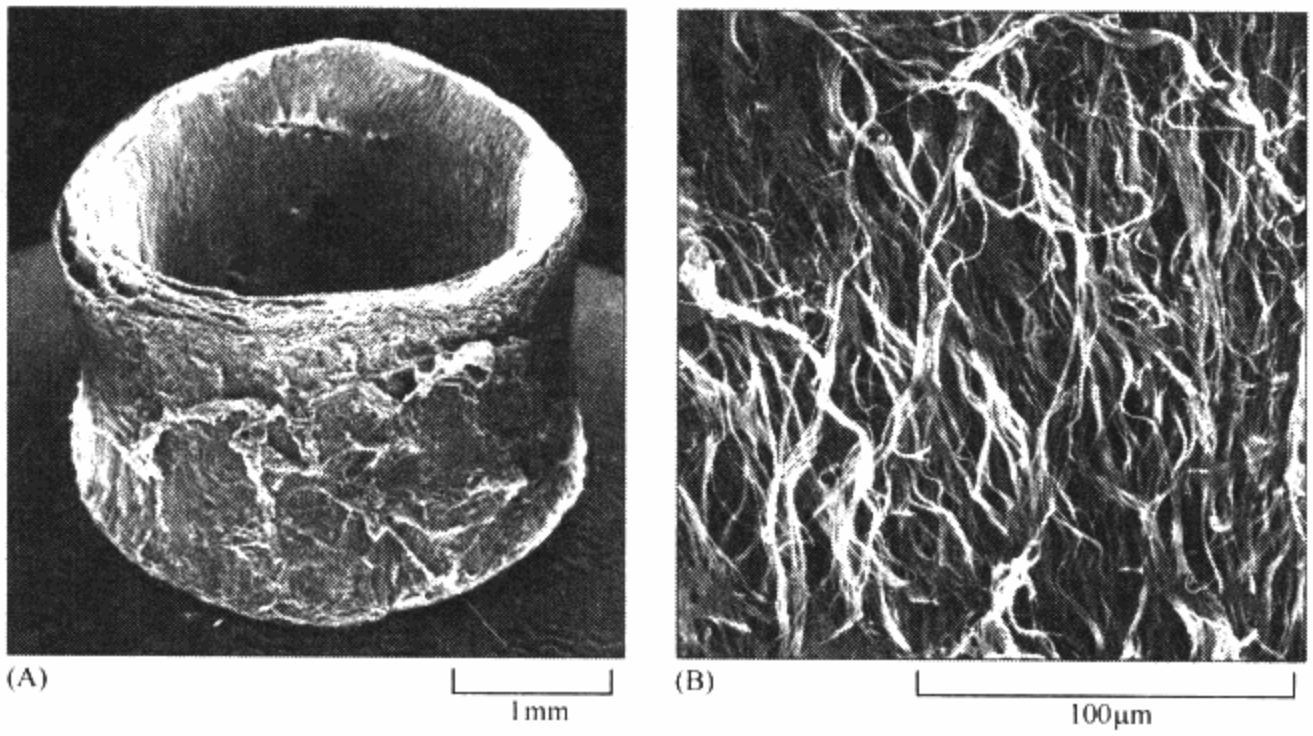


图 19-51　弹性纤维的扫描电镜图片

（A）狗大动脉片段（低分辨率）；（B）在与（A）相同的动脉血管外层纵向排列的致密弹性纤维网（高分辨率）。其他的组分都被酶和甲酸消化掉（摘自 K. S. Haas，S. J. Phillips，A. J. Comerota，and J. W. White，*Anat. Rec.* 230：86～96，1991. © Wiley-Liss，Inc）

构型，就是组分分子的随机缠绕结构交联成弹性纤维网络结构，使这种网络结构能够像橡皮圈一样伸展回缩（图 19-52）。

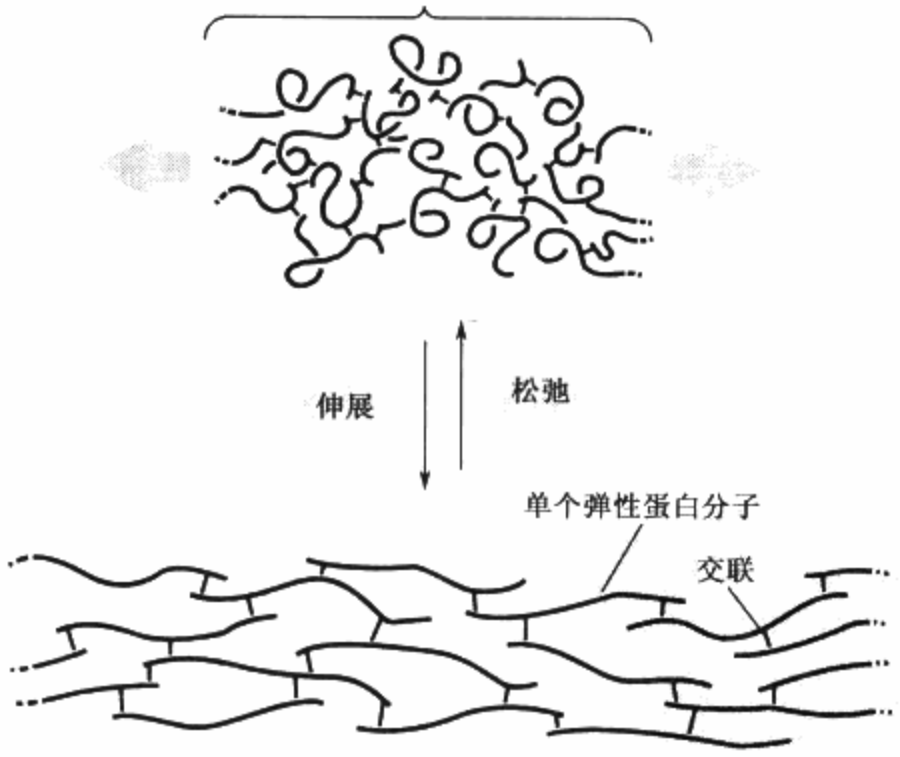


图 19-52　伸展的弹性纤维分子网

这些分子通过共价键（红色）连接而成为交联网络结构。在这个模型中，每个弹性纤维分子都可以伸展并随意地收缩，因此整体上会形成一个橡皮圈结构

在动脉中，弹性蛋白是主要的细胞外基质蛋白，占主动脉干重的 50%。在鼠或者人中，导致弹性蛋白功能缺陷的基因突变会造成动脉狭小和其他动脉病变，这是由于动脉壁上的平滑肌细胞过度繁殖所造成的。很显然，抑制这些细胞的增殖需要动脉具有正常的弹性。

弹性纤维不仅仅由弹性蛋白组成。弹性蛋白核心由微纤维（microfibril）鞘覆盖，每个微

纤维鞘直径大约 10nm。微纤维由很多不同的糖蛋白组成，包括大的糖蛋白——微纤维蛋白（fibrillin），它与弹性蛋白结合，是维持弹性纤维的完整性所必需的。微纤维蛋白基因的突变导致 Marfan 综合征（Marfan's syndrome），一种影响富含弹性纤维的结缔组织的人类常见基因病；在大部分严重受损的个体中，大动脉更易破裂。一般认为微纤维在弹性纤维装配中起重要作用。在组织发育中，它们比弹性蛋白更早出现，好像形成分泌弹性蛋白分子沉积的脚手架结构。随着弹性蛋白沉积，微纤维就转移到正在形成的弹性纤维的外围。

纤连蛋白是帮助细胞附着在基质上的细胞外蛋白

细胞外基质含有许多非胶原蛋白，这些蛋白质具有典型的多结构域，每个结构域都有与其他细胞外大分子和细胞表面受体特异结合的位点。因此，这些蛋白质既有助于基质的装配，也有助于细胞与基质附着。在它们中，第一个被详细描述的是纤连蛋白（fibronectin），它是一种发现于所有脊椎动物中的大的糖蛋白。纤连蛋白是由两个大的亚基通过二硫键结合起来的二聚体。每个亚基折叠成一系列功能不同的结构域，这些结构域由柔软的多肽链区域隔开[图 19-53（A）和（B）]。这些结构域由更小的模块组成，而模块是连续重复的并且是由单独的外显子编码的，表明纤连蛋白基因和胶原质基因一样，由外显子的多轮扩增进化而来。所有类型的纤连蛋白都是由一个含有 50 个大小相似的外显子的大基因编码的。转录产生一个大的 RNA 分子，然后通过选择性剪接，产生纤连蛋白的各种异构体。模块的主要类型被称为

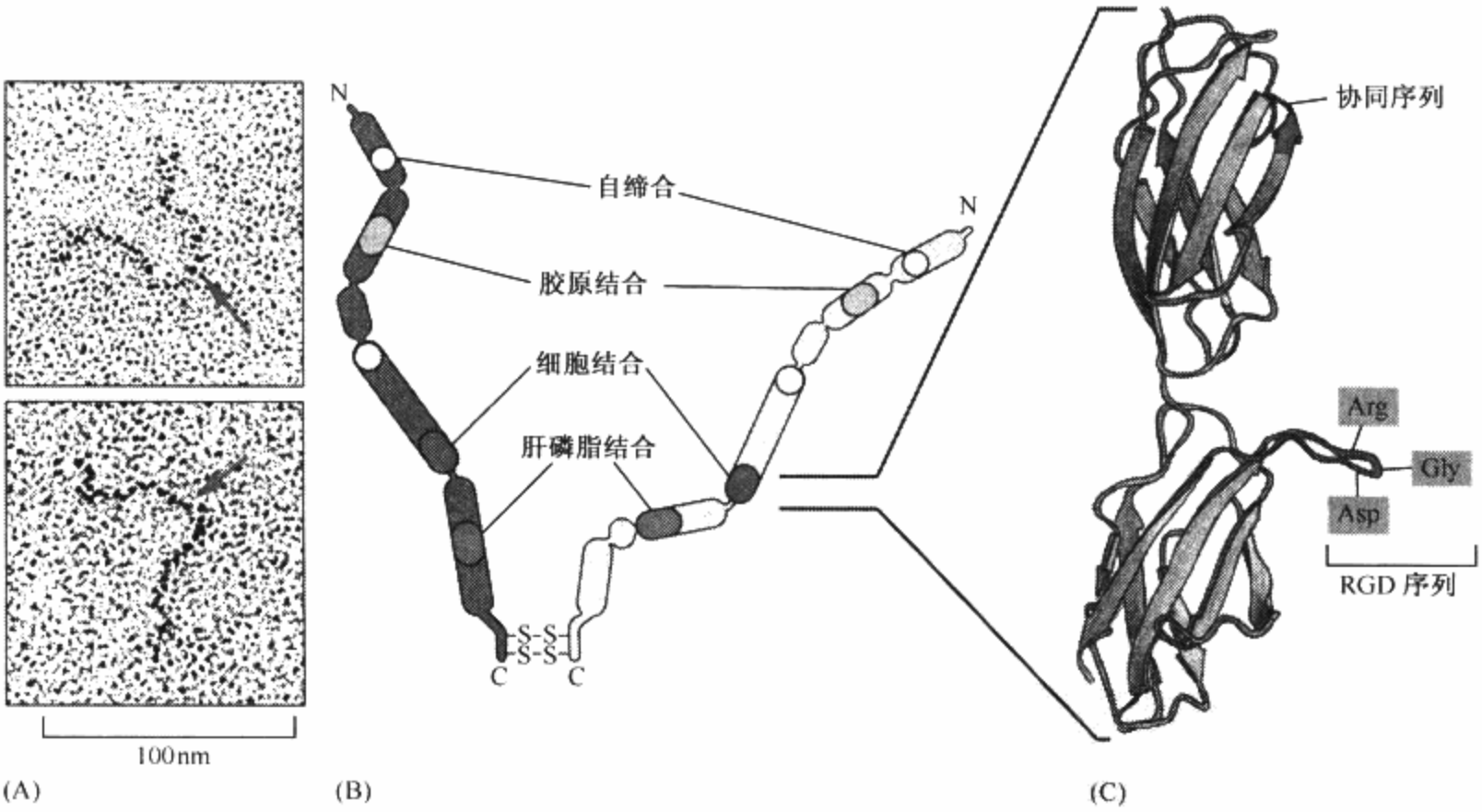


图 19-53　纤连蛋白二聚体的结构

（A）铂金染色的纤连蛋白二聚体的电镜照片；红箭头代表了蛋白质的 C 端。（B）两条多肽链相似但不完全相同（由同一基因经过不同的 mRNA 剪切产生的）。它们通过 C 端的两个二硫键而交联在一起。每条肽链大约由 2500 个氨基酸残基组成，并且形成 5～6 个由柔性的多肽连接在一起的结构域，每个结构域可特异地结合相应的分子或细胞，图中显示了 5 个结构域的结合分子。为了简洁明了，并不是所有已知的结合结构域都被显示出来（如还有其他的细胞结合结构域）。（C）X 射线晶体衍射确定的两种Ⅲ型纤连蛋白重复单位的三维结构。Ⅲ型纤连蛋白重复单位是纤连蛋白最主要的重复单位。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸（RGD）序列和“协同”序列（都以红色显示）形成了细胞结合位点的一部分[（B）中以蓝色显示]。[（A）摘自 J. Engel et al., *J. Mol. Biol.* 150: 97～120, 1981. © Academic Press; （C）摘自 Daniel J. Leahy, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13: 363～393, 1997. © Annual Reviews.]

类型Ⅲ纤连蛋白重复（type Ⅲ fibronectin repeat），与整联蛋白结合。它大约有 90 个氨基酸残基长，在每个亚基中至少出现 15 次。在脊椎动物中，类型Ⅲ纤连蛋白重复在所有蛋白质结构域中是最常见的。

研究像纤连蛋白这样复杂的多功能蛋白质的一个方法是：把它分割成几片，分别鉴定其单个结构域的功能。用低浓度的蛋白酶处理纤连蛋白，多肽链就在结构域之间的连接区域断裂，而每个结构域仍然保持完整。然后可以看到它的一个结构域与胶原结合，一个与肝磷脂结合，一个与各种细胞表面特异受体结合等［图 19-53（B）］。对应于细胞结合结构域的不同片段而人工合成的多肽，已经用来鉴定一个特异的三肽链序列（Arg-Gly-Asp，或者 RGD），这种序列发现于类型Ⅲ重复中的一个［图 19-53（C）］，它是结合位点的主要特征。甚至非常短的含有 **RGD 序列（RGD sequence）** 的多肽也能与纤连蛋白竞争细胞上的结合位点，因而抑制了细胞与纤连蛋白基质附着。如果这些多肽与一个固体表面附着，它们可以导致细胞黏附到上面。

RGD 序列并不仅仅存在于纤连蛋白中，它在许多细胞外蛋白中都有存在，如凝血因子纤维蛋白原（fibrinogen）。含有 RGD 序列的纤维蛋白原多肽已经用于模拟这些多肽的抗凝血药物的开发。蛇采取相同的策略，导致它们的受害者流血：它们向毒液中分泌被称为裂合素（disintegrin）的含有 RGD 的抗凝血蛋白。

RGD 序列可以被细胞表面基质受体整联蛋白家族的几个成员识别。然而，每种整联蛋白只特异识别它自己的一小批基质分子，表明紧密结合还需要除 RGD 之外的其他序列。

纤连蛋白可以以纤维状或溶解性状态存在

纤连蛋白有多种异构形式。一种为可溶性的，被称作血浆纤连蛋白（plasma fibronectin），在血浆或其他体液中循环，它可以增强血液凝固、创伤愈合和吞噬作用。所有其他的异构形式都在细胞表面装配，并且在细胞外基质中沉积成高度不溶的形式，被称为纤连蛋白原纤维。这些细胞表面和基质形成中，纤连蛋白二聚体是通过另外的二硫键交联起来。

不像纤维状胶原分子可以在试管中自装配形成原纤维，纤连蛋白分子只在某些细胞表面装配成原纤维。这是因为原纤维形成需要另外的蛋白质，特别是结合纤连蛋白的整联蛋白。在成纤维细胞中，纤连蛋白原纤维在被称为纤粘连（fibrillar adhesion）的位点与整联蛋白结合。这些与黏着斑不同，在那里它们伸得更长，而且含有多种细胞内锚定蛋白。细胞表面的纤连蛋白原纤维高度伸展，处于紧张状态。这种紧张状态作用于细胞上，并且是原纤维形成的基础，这一点我们下面将会讨论。一些分泌蛋白可以防止纤连蛋白在错误的地方装配。例如，子宫球蛋白（uteroglobin）与纤连蛋白结合，阻止它在肾中形成原纤维。子宫球蛋白基因突变的老鼠在它们的肾中积累不溶性的纤连蛋白原纤维。

纤连蛋白在动物发育中的重要作用，可以通过基因失活实验得到很好的说明。突变的老鼠不能产生纤连蛋白，在胚胎发生早期死亡，这是因为它们的内皮细胞不能形成适当的血管。一般认为这种缺陷是由这些细胞与周围的细胞外基质之间的异常相互作用所造成的，这些基质通常含有纤连蛋白。

细胞内肌动蛋白纤维调节细胞外纤连蛋白原纤维的装配

在细胞表面或近细胞表面形成的纤连蛋白原纤维通常与相邻的细胞内肌动蛋白应力纤维排成一行（图 19-54）。实际上，细胞内肌动蛋白丝可以推动分泌的纤连蛋白分子装配成原纤维，并且影响原纤维的走向。如果用破坏肌动蛋白丝的细胞松弛素处理细胞，纤连蛋白原纤

维就从细胞表面解离（就像它们在细胞有丝分裂中的那样）。

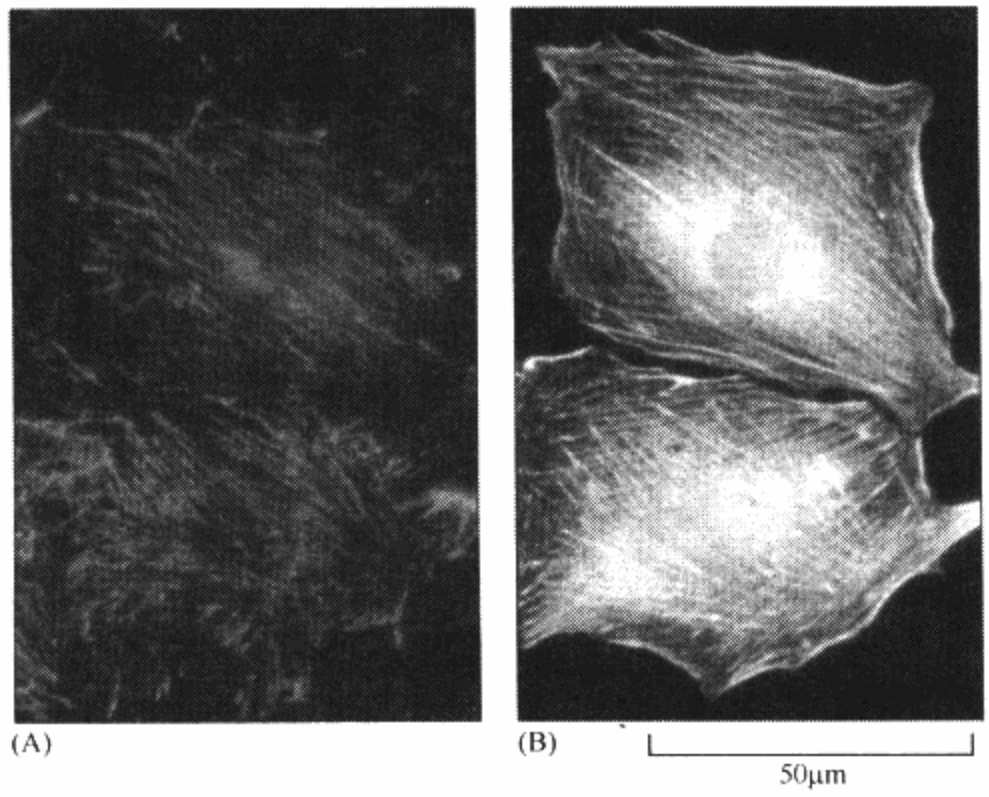


图 19-54　胞外纤连蛋白原纤维同胞内肌动蛋白束的共排列

（A）通过结合偶联罗丹明的纤连蛋白抗体，纤连蛋白在两个培养液中的鼠成纤维细胞中被显示出来。（B）通过结合偶联荧光素的肌动蛋白抗体，肌动蛋白被显示出来（摘自 R. O. Hynes and A. T. Destree, *Cell* 15：875～886，1978. © Elsevier.）

细胞外纤连蛋白原纤维和细胞内肌动蛋白丝之间的相互作用主要通过整联蛋白跨膜结合蛋白介导。因此，可收缩的肌动蛋白和肌球蛋白细胞骨架牵拉纤连蛋白基质，从而产生张力。结果，纤连蛋白原纤维被拉长，暴露出纤连蛋白分子中隐秘的结合位点，允许它们彼此直接结合。此外，拉长也为整联蛋白暴露出更多的结合位点。通过这种方式，肌动蛋白细胞骨架就推动了纤连蛋白的多聚化和基质装配。

细胞外信号可以通过改变肌动蛋白细胞骨架结构，并因此改变了作用于原纤维的张力，来调节装配过程。许多其他的细胞外基质蛋白都有与类型Ⅲ纤连蛋白重复相似的多重复，很可能作用在这些蛋白上的张力也暴露出隐秘的结合位点，因此影响它们的多聚化。

基质中糖蛋白有助于引导细胞迁移

纤连蛋白不仅对于细胞与基质的连接，而且对于在脊椎动物胚胎中引导细胞的迁移，都是很重要的。例如，在两栖类动物原肠胚的形成中（在第 21 章讨论），沿着中胚层细胞迁移的途径，发现了大量的纤连蛋白。虽然早期胚胎的所有细胞都能结合纤连蛋白，但只有那些迁移细胞可以在纤连蛋白上伸展迁移。通过向正在发育的两栖类动物胚胎中注射各种破坏细胞与纤连蛋白结合能力的配体，这种迁移可以受到抑制。

许多基质蛋白被认为在发育中具有引导细胞运动的功能。例如，黏胶蛋白（tenascin）和血小板反应蛋白（thrombospondin）都由几种短氨基酸序列进行多次重复组成，形成功能不同的结构域。依赖细胞类型的不同，它们可以促进或者抑制细胞黏着。实际上，抗黏着相互作用和黏着相互作用一样，在引导细胞迁移中有同样重要的作用，我们会在第 21 章讨论。

基膜主要由类型Ⅳ胶原、层粘连蛋白、巢蛋白和硫酸类肝素蛋白聚糖组成

前面提到过，**基膜（basal laminae）**是柔韧的、薄的（40～120nm 厚）细胞外基质特化结构，它是位于上皮细胞层和细胞管下面的“垫子”。它们也围绕在个体肌肉细胞、脂肪细胞和施旺氏细胞（环绕在外周神经细胞轴突周围形成髓磷脂）周围。因此，基膜把这些细胞和上皮组织与周围或底部结缔组织分离开来。在其他地方，如肾小球，基膜位于两细胞层中间，作为高选择性的过滤器发挥作用（图 19-55）。然而，基膜并不仅仅具有简单结构和过滤功能，它们还能决定细胞极性，影响细胞代谢，装配相邻细胞质膜中的蛋白质，促进细胞生长、增殖或分化，并且为细胞迁移提供特异高速通道。

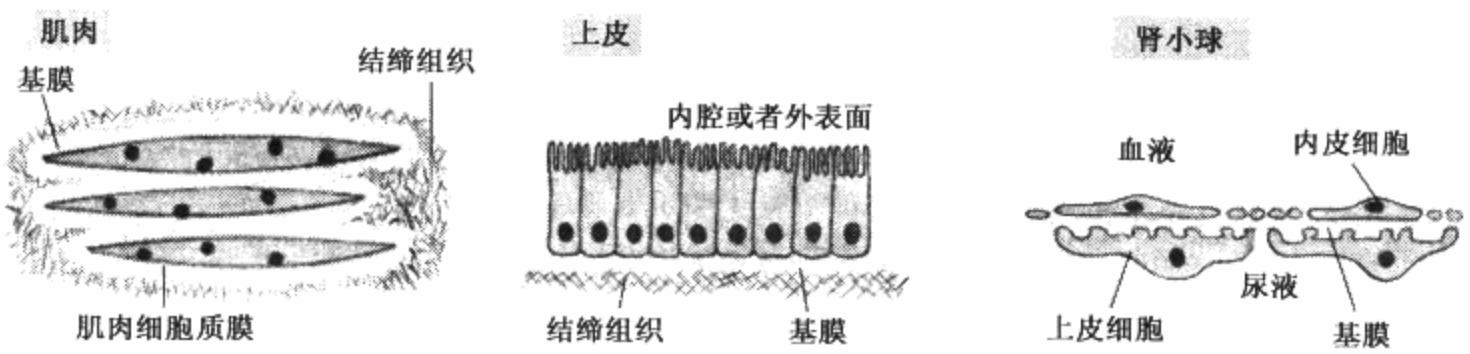


图 19-55　基膜组织的三种方式

基膜（黄色）包围了某些细胞（如骨骼肌细胞），位于上皮细胞的下面或者插入两层细胞之间（如在肾小球中）。注意在肾小球，两层细胞都有空隙，所以基膜作为可透性膜决定了哪些分子从尿液中滤过而进入血液

基膜主要由位于其上的细胞合成的（图 19-56）。在一些多层上皮中，如形成皮肤的扁平上皮，通过由类型Ⅶ胶原分子形成的特化的锚定原纤维，基膜定位在结缔组织的下面。基底膜（basement membrane）经常用来指由基膜和胶原原纤维层组成的复合物。在一种皮肤疾病中，这些连接或者缺失，或者受到破坏，上皮和相应的基膜从下面结缔组织上解离下来，导致皮肤起泡。

虽然它精确的组成随组织的不同而不同，甚至在一些基膜的不同区域也有所不同，大部分成熟的基膜都含有类型Ⅳ胶原（type Ⅳ collagen）、大的硫酸类肝素蛋白聚糖、层粘连蛋白和巢蛋白（也被称为内连蛋白，entactin）。

类型Ⅳ胶原存在几种异构形式。它们都具有比纤维胶原质更加柔韧的结构；它们的三股螺旋链被分为 26 个区域，允许多重弯曲的发生。它们在分泌后不被剪切而保持完整，经过未剪切的末端结构域发生相互作用，在细胞外装配成多层柔韧的网络层。

在发育早期，基膜含有少量的或者不含有类型Ⅳ胶原，主要由层粘连蛋白分子组成。**层粘连蛋白-1（laminin-1）**（典型层粘连蛋白）是由三条多肽链（α、β 和 γ）组成的大的、柔韧的蛋白质，这三条链通过二硫键连接形成不对称的十字形状（图 19-57）。每条链的几种异构形式可以以不同的组合结合在一起，形成一个大的层粘连蛋白家族。层粘连蛋白 γ-1 链是大部分异源三聚体层粘连蛋白的组分，缺少它的鼠在胚胎发生期就死亡，因为它们不能形成基膜。和许多其他的细胞外基质蛋白一样，基膜中层粘连蛋白由几个功能结构域组成：一个与渗滤素（perlecan）结合，一个与巢蛋白结合，两个或者更多的结构域与细胞表面层粘连蛋白受体蛋白结合。

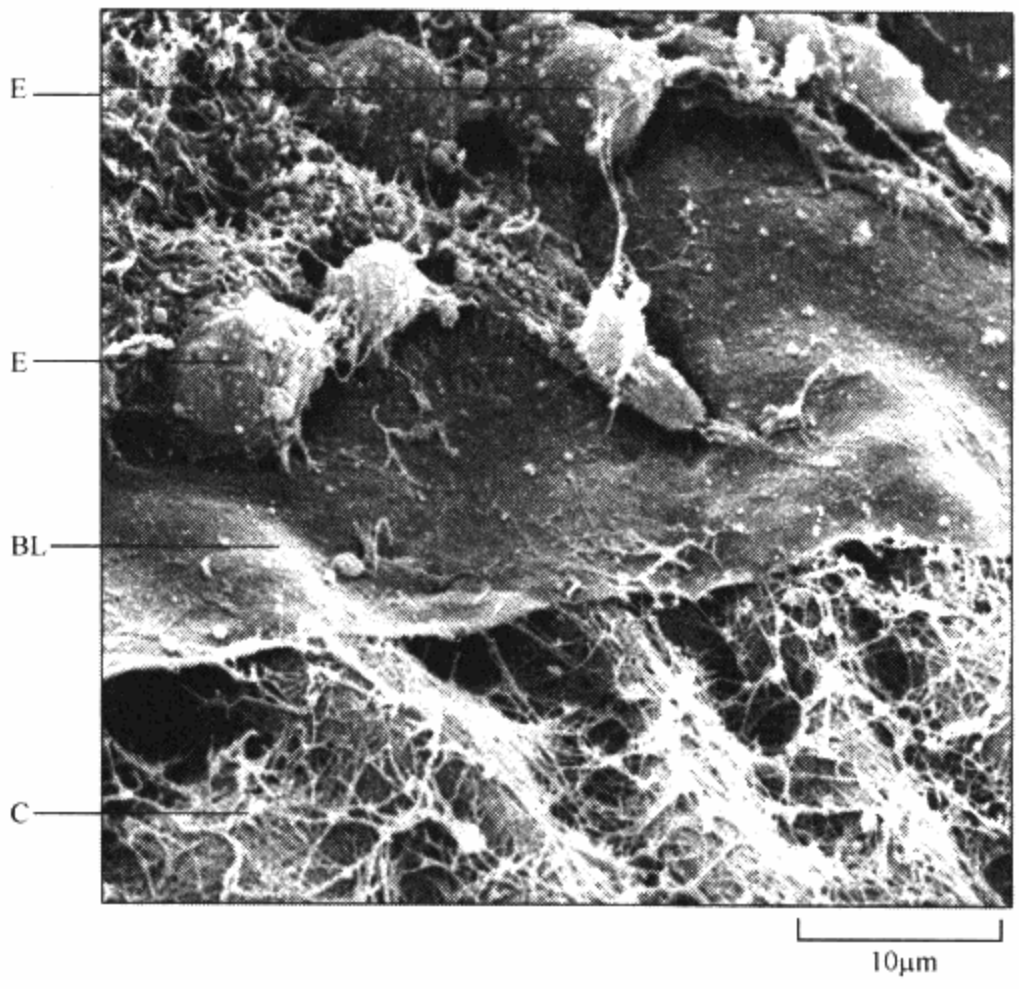


图 19-56　鸡胚胎角膜中的基膜

在这个扫描电镜中，去除了一些上皮细胞（E）而暴露出席子状基膜的上表面（BL）。下层的结缔组织中胶原分子形成的网状结构（C）与基膜的下表面发生相互作用（经 Robert Trelstad 许可）

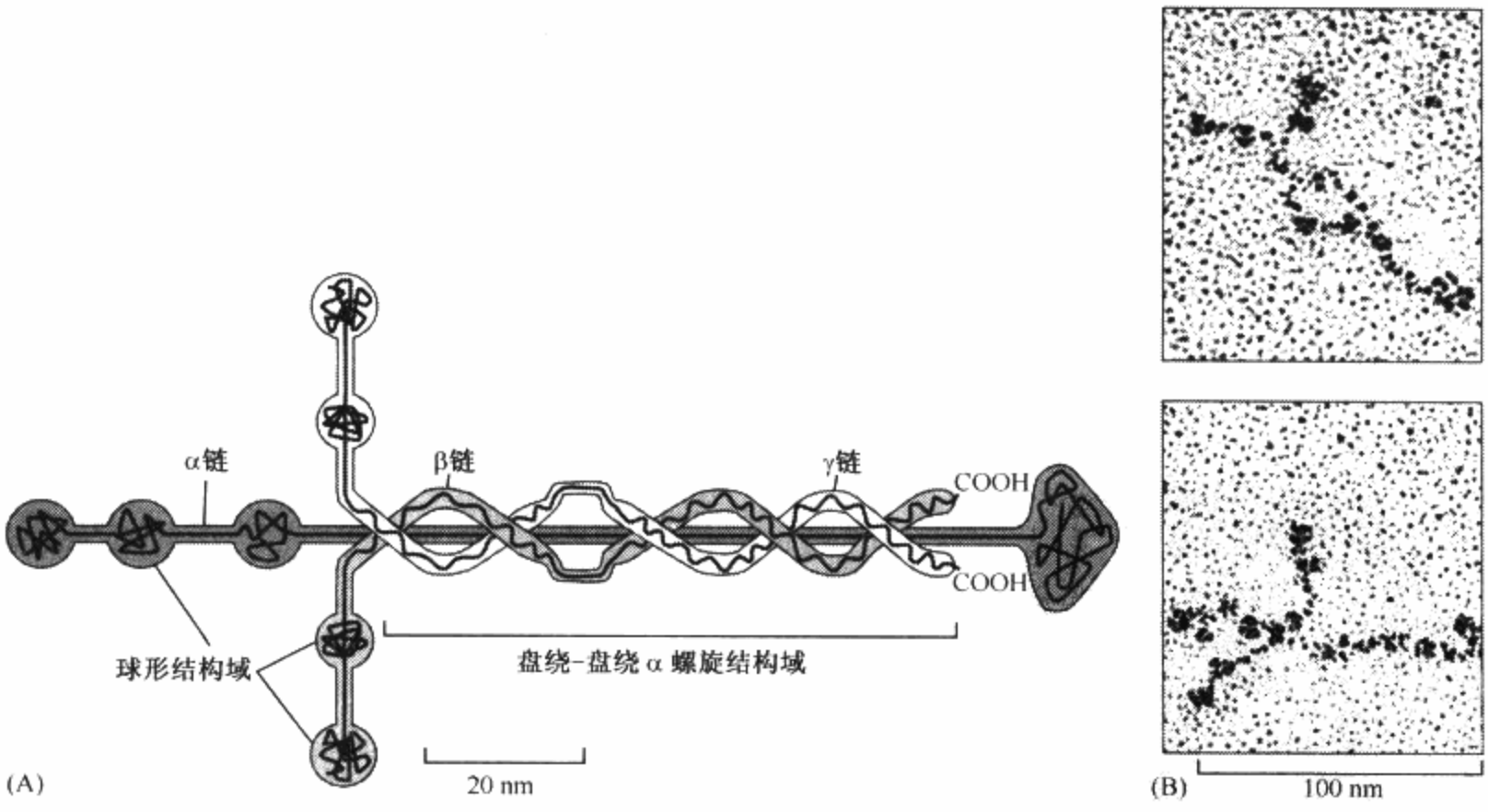


图 19-57　层粘连蛋白的分子结构

（A）层粘连蛋白-1 分子的亚单位。这个多结构域的糖蛋白由三种多肽（α、β 和 γ）通过二硫键相互交联形成不对称的十字架结构。每个多肽链都由超过 1500 个氨基酸组成。已知有 5 种 α 链、三种 β 链、三种 γ 链；理论上它们可以形成 45（5 • 3 • 3）种不同组合的层粘连蛋白的异构体。已经发现几种这样的异构体，它们都具有组织特异性。（B）铂金染色的层粘连蛋白的电镜照片

与类型Ⅳ胶原一样，层粘连蛋白可以在体外自装配成毡状的薄层，主要是通过层粘连蛋白臂末端间的相互作用。因为巢蛋白和渗滤素能够与层粘连蛋白和类型Ⅳ胶原结合，所以认为它们可以连接类型Ⅳ胶原和层粘连蛋白形成的网络（图 19-58）。在组织中，层粘连蛋白和类型Ⅳ胶原更易结合产生它们的细胞表面上的受体进行多聚化。许多类型Ⅳ胶原细胞表面受体和层粘连蛋白是整联蛋白家族成员。另一重要类型的层粘连蛋白受体是跨膜蛋白肌萎缩蛋白聚糖（dystroglycan），它和整联蛋白一起，可能组织基膜的装配。

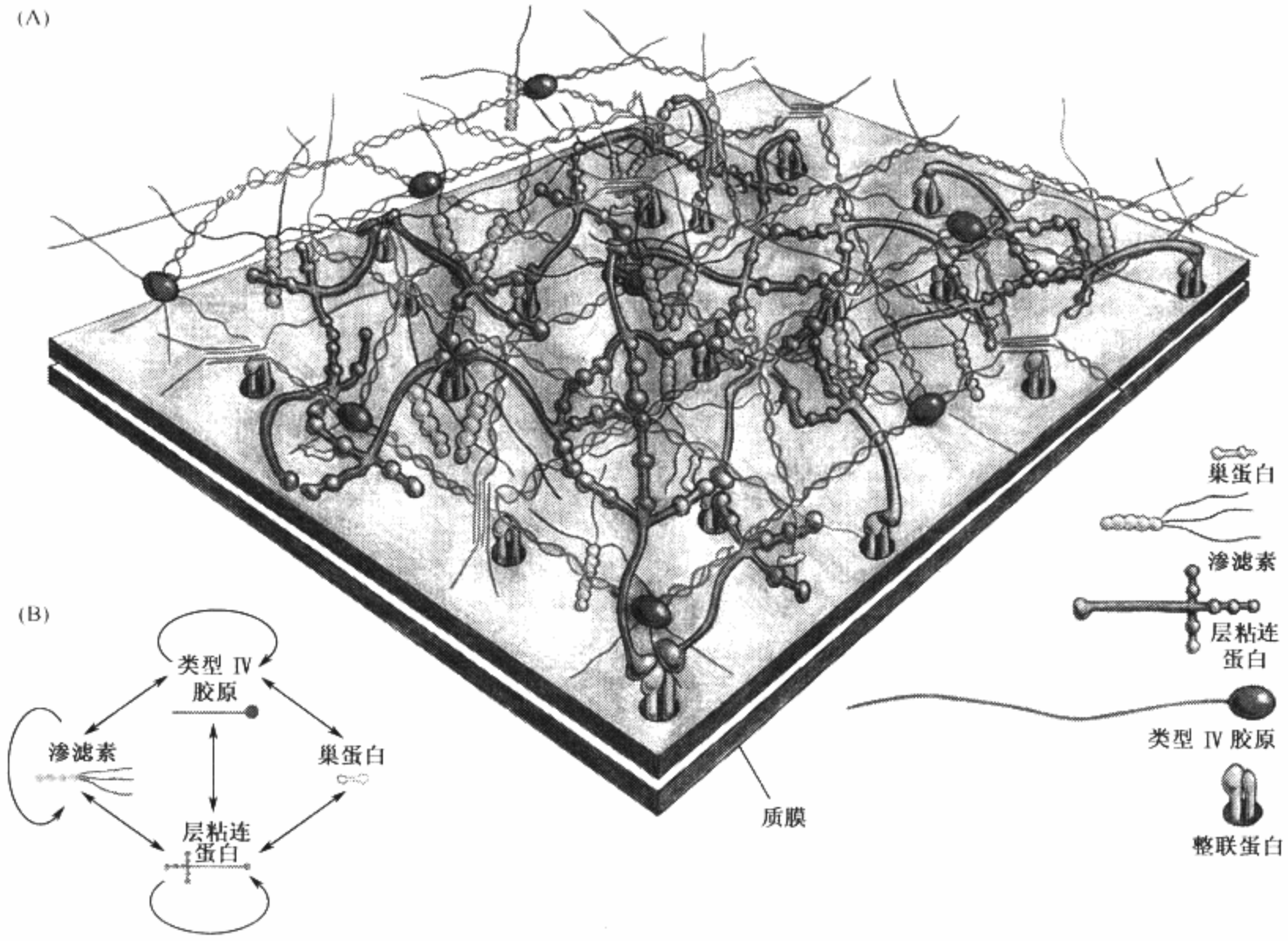


图 19-58　基膜的分子结构模型

（A）基膜通过（B）中Ⅳ型胶原、层粘连蛋白、巢蛋白和基底膜蛋白聚糖之间特异的相互作用而形成。（B）中的箭头代表可以彼此直接结合的分子。Ⅳ型胶原和层粘连蛋白有多种异构形式，每种异构形式都有特异的组织分布。一般认为质膜上的跨膜层粘连蛋白受体（整联蛋白和肌萎缩蛋白聚糖）对于基膜起组装作用；在图中只显示了整联蛋白。（摘自 H. Colognato and P. D. Yurchenco, *Dev. Dynamics* 218：213～234，2000）

本章讨论到的一些细胞外基质分子的大小和形状，在图 19-59 中进行了比较。

基膜具有多种功能

我们前面提到过，在肾小球中，一种不常见的厚的基膜作为分子过滤器，在尿的形成中，阻止大分子从血液中进入尿液（图 19-55）。基膜中的硫酸类肝素糖蛋白对这一功能的发挥具有重要作用：用特异的酶切去它的 GAG 链，就破坏基底层的过滤功能。而类型Ⅳ胶原也起作用，因为人类遗传性肾功能紊乱（alport syndrome）是由类型Ⅳ胶原 α 链基因突变造成的。

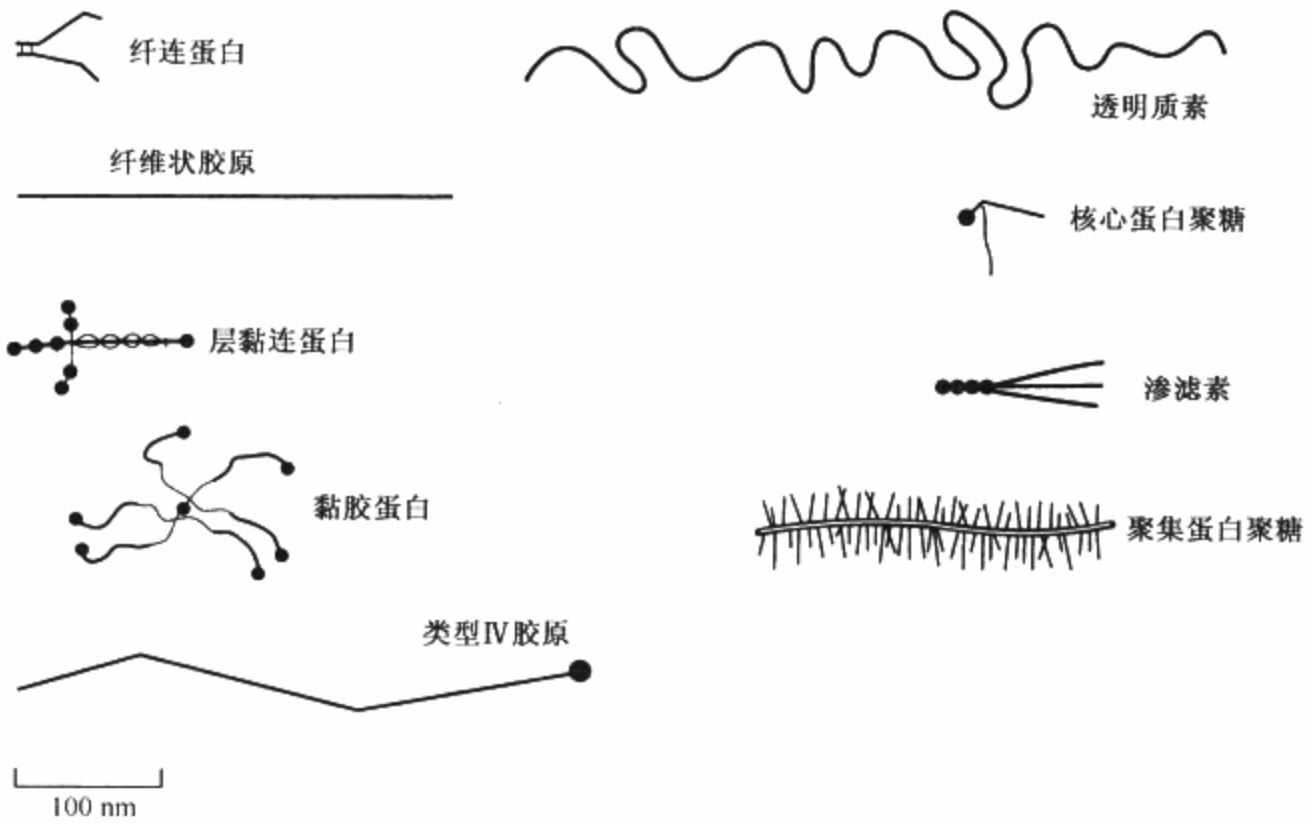


图 19-59　主要的细胞胞外基质大分子的形状和大小比较

蛋白质用绿色显示，糖胺聚糖用红色显示

基膜也可作为细胞运动的选择性屏障。例如，在上皮下面的基膜通常阻止下面结缔组织中的成纤维细胞与上皮细胞接触。然而，它并不阻止巨噬细胞、淋巴细胞或者神经传导通过。基膜对组织受伤后再生也很重要。当组织，如肌肉、神经和上皮组织受到损害时，基底层能够生存下来，为再生的细胞提供脚手架，再生的细胞可以沿着脚手架迁移别处。以这种方式，原先的组织结构可以很容易地得到重建。在有些情况下，如在皮肤或角膜中，在受伤后基膜会改变其化学性质，如增加纤连蛋白，它可以促进伤口愈合所需的细胞迁移。

证明基膜在组织重建中有重要作用的一个显著例子是来自于神经肌肉细胞连接（neuromuscular junction）的研究，在连接位点，运动神经元的神经终端与骨骼肌细胞形成化学突触（在第 11 章讨论）。肌肉细胞周围的基膜在突触处将神经和肌肉细胞分开，基膜的突触区域有独一无二的化学特征，含有类型Ⅳ胶原、层粘连蛋白和被称为**固定蛋白（agrin）**的硫酸类肝素糖蛋白的特异异构体。

突触处的基膜在神经或肌肉受损后突触的重建中起重要作用。如果青蛙的肌肉和它的运动神经遭到破坏，但每个肌肉细胞周围的基膜仍然保持完整，那些原先的神经肌肉细胞处的连接仍能够重建。如果让运动神经而不是肌肉再生，神经轴突在空的基膜上寻找原先的突触位点，然后在那里分化形成形态正常的神经末端。因此，连接性基膜自身可以引导运动神经末端的再生。

相似的实验表明，基膜还控制乙酰胆碱受体的定位，这些受体在神经肌肉连接处的肌肉细胞质膜上簇集。如果肌肉和神经同时受到破坏，让肌肉再生而阻止神经再生，虽然老的连接处没有神经，但再生肌肉合成的乙酰胆碱受体仍然主要定位于这里（图 19-60）。因此，很显然，连接性基膜协调了两个形成神经肌肉连接的细胞中组分的局部空间组织。已经鉴定了一些基质蛋白。例如，运动神经元轴突在连接性基膜上沉积固定蛋白，在这里它启动了乙酰胆碱受体和位于肌肉细胞的连接性质膜上的其他蛋白质的装配。相反，肌肉细胞在连接性基膜上沉积一种层粘连蛋白的特异异构体。这种异构体和固定蛋白对于正常的神经肌肉连接的形成都是很必要的。

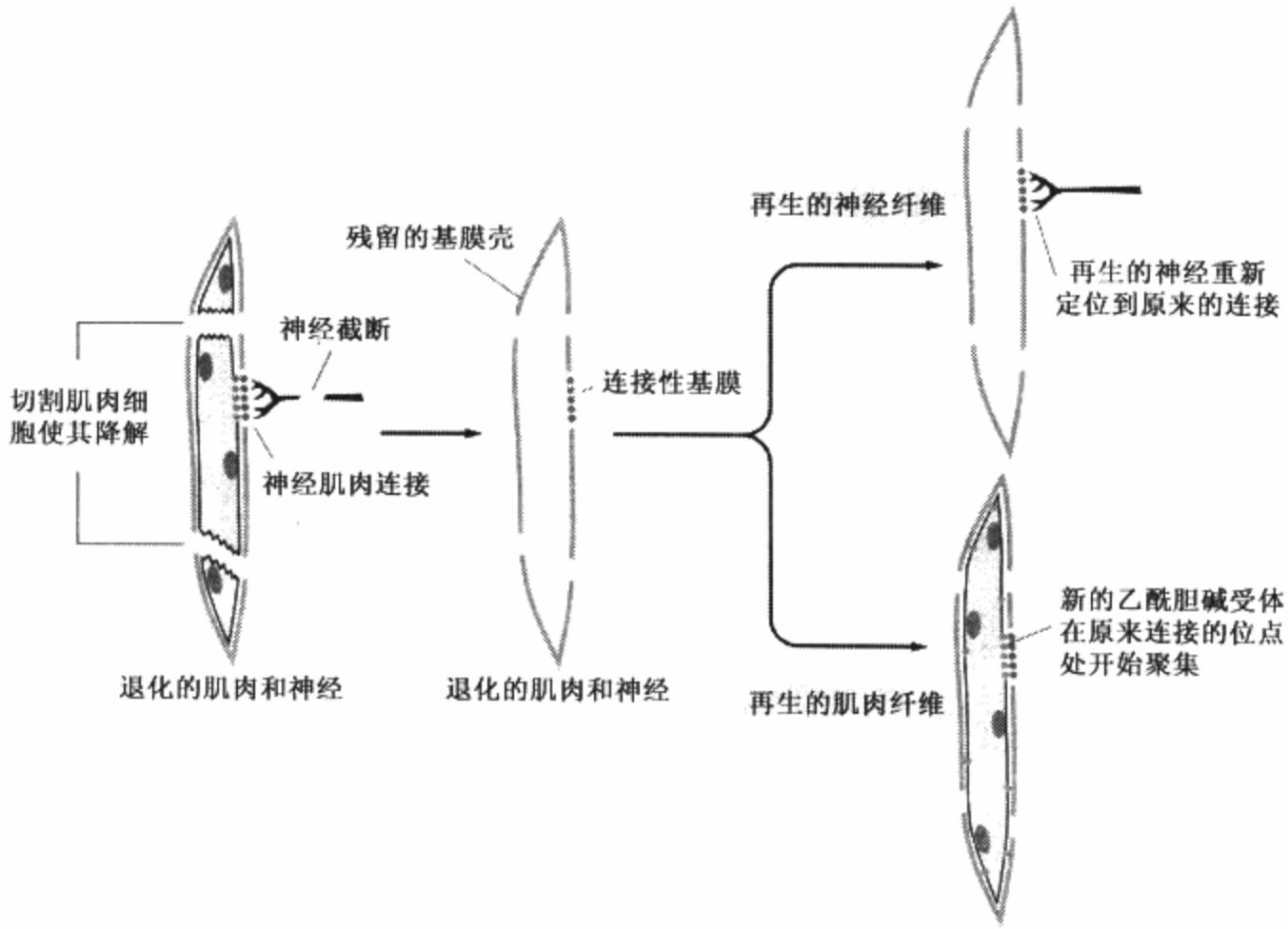


图 19-60　展示了神经肌肉细胞连接中连接性基膜的特征的再生实验

神经细胞和肌肉细胞都被破坏（图的上部）之后，当只允许神经细胞再生时，连接性基膜把再生神经定位到原来的突触部位。当只允许肌肉细胞再生时（图的下面部分），连接性基底膜使新合成的乙酰胆碱受体（蓝色）积累在原先的突触部位。从卫星细胞（见第 22 章）再生的肌肉细胞定位于基膜和原先的肌肉细胞之间（未显示）。这些实验表明连接性基膜决定了突触组分在基膜两侧的定位

细胞外基质可以影响细胞的形状、生长和增殖

细胞基质可以影响细胞内细胞质骨架的组织装配。这可以通过使用转染的成纤维细胞（类癌细胞）来形象地说明（在第 23 章讨论）。转染的细胞通常比正常培养细胞合成的纤连蛋白少，并且表现行为也不相同。例如，转染细胞与培养基结合不牢，不能变扁或细胞内的肌动蛋白束不能装配成应力纤维（stress fiber）。纤连蛋白产量和黏附性的降低，可能对于癌细胞脱离初级肿瘤和扩散到身体的其他部位有着重要作用。

在有些情况下，异常的癌细胞形态至少在部分上是由纤连蛋白缺陷造成的。如果这些细胞生长在装配好的纤连蛋白原纤维的基质中，它们能够变扁，并且装配与细胞外纤连蛋白元纤维共排列的细胞内应力纤维。细胞外基质与细胞质骨架的相互作用是互利的，正如我们前面讨论的那样，细胞内肌动蛋白纤维可以促进纤连蛋白原纤维的装配并影响其定向。因为细胞质骨架能够施加应力，决定了细胞分泌的基质大分子的方向，而基质大分子反过来也能帮助装配与它们接触的细胞骨架；理论上讲，细胞外基质能在细胞间传递命令（图 19-61），创造大规模有序的结构，如以前讨论的（图 19-50）一样。整联蛋白在这个有序过程中作为主要的结合素，介导细胞与其周围基质间的相互作用。

大部分细胞需要附着在细胞外基质上生长和增殖——并且在许多情况下，甚至是生存。细胞生长的这种依赖性，被称为锚定依赖（anchorage dependence），主要是由整联蛋白和它们产生的细胞内信号来介导。细胞在基质上机械地伸展，对细胞内发生的事件也有强烈的影响。与那些不怎么伸展的细胞相比，即使在两种细胞都具有相同的直接与基质接触的面积情

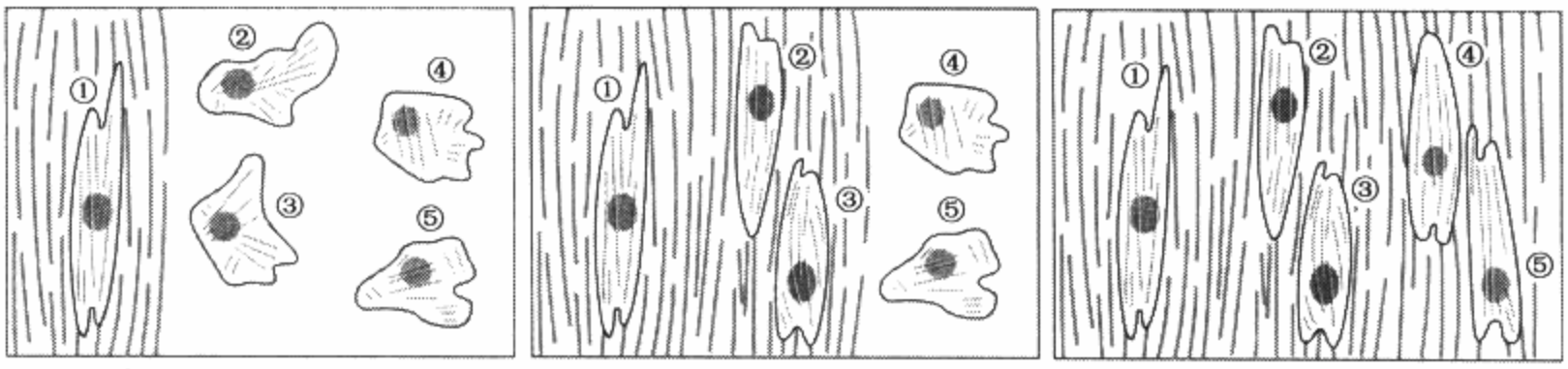


图 19-61　在理论上，某组织细胞外基质是如何在细胞间传递命令的

为简洁起见，图中仅仅显示了一个细胞影响其周围细胞方向的假设方案。更加可能的方案是细胞之间相互影响各自的定向

况下，能够伸展成较大面积的细胞更易生存，并且增殖较快（图 19-62）。细胞伸展的刺激效应可能有助于组织在受伤后的再生。例如，如果上皮细胞有缺失，剩余的细胞伸展到缺失地方，刺激它们增殖，直到填满空隙。然而，细胞怎样感知自己的伸展程度，以调整它相应的行为，目前还不太清楚。

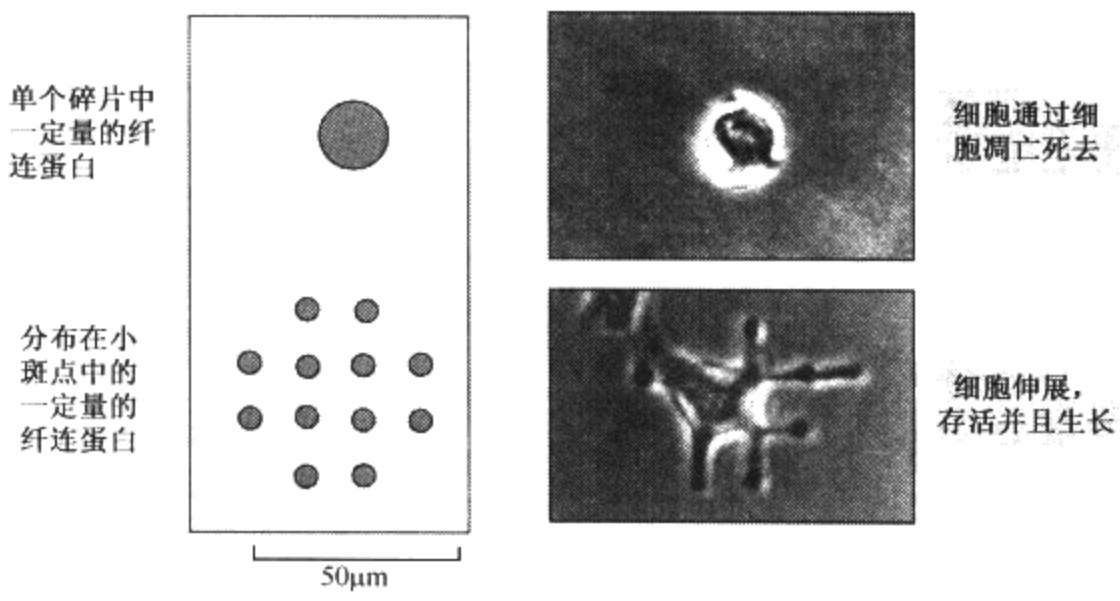


图 19-62　细胞伸展的锚定依赖性和重要性

对于许多细胞来说，与胞外基质的接触都是生存、生长和增殖所必需的。在这个实验中，是细胞伸展的程度，而不是细胞接触的基质分子的多少，影响细胞的生存（图 17-49）（摘自 C. S. Chen et al.，*Science* 276：1425～1428，1997. © AAAS.）

细胞外基质组分的可调控降解有助于细胞迁移

细胞外基质大分子的调节循环，对许多重要的生物过程都是至关重要的。例如，分娩后子宫的恢复，或者当变态发育中蝌蚪尾巴的再吸收，都发生快速降解（图 17-36）。当细胞通过基膜时，需要基质组分进行局部降解。当应答感染或者损伤时，白细胞通过血管的基膜迁移到组织中；当癌细胞从它的原初位点通过血液或淋巴液扩散到远处的器官时——这个过程被称为转移（metastasis），就会发生基质组分的局部降解。即使表面上稳定的成年动物的细胞基质也有慢的、连续的循环，在循环中基质大分子被降解和重新合成。

在上述的这些情况下，基质组分被局部细胞分泌的细胞外蛋白质水解酶降解。因此，用识别蛋白酶水解产物的抗体只能把细胞周围的基质染色。许多这类蛋白酶属于两大类蛋白酶中的一类。大部分是**基质金属蛋白酶（matrix metalloprotease）**，它们的活性依赖于结合的 Ca^{2+} 或者 Zn^{2+}；其他的是丝氨酸蛋白酶，在它们的活性中心有高度活化的丝氨酸。金属蛋白酶和丝氨酸蛋白酶共同作用，降解基质蛋白质，如胶原、层粘连蛋白和纤连蛋白。一些金属蛋白酶，如胶原酶，是特异性特别高的，只在很少的位点水解某些蛋白质。通过这种方式，基质结构的完整性得到维持，而少量的蛋白质降解又有利于细胞迁移。其他的金属蛋白酶可能特异性不高，但是，由于它们结合在细胞质膜上，它们可以在需要的地方发挥作用。

细胞迁移中蛋白酶水解的重要性，可以用蛋白酶抑制剂来说明，这些抑制剂经常阻碍迁移。此外，在培养条件下，细胞易在类型Ⅰ胶原上迁移，如果对胶原分子上胶原酶敏感的水解位点进行突变，使之变得抗蛋白酶水解，细胞就不再迁移。基质蛋白的水解可以以几种不同的方式影响细胞迁移：①为细胞迁移在基质中清理出一条通道；②可以暴露出能促进细胞结合、迁移或两者的蛋白质上的隐秘位点；③可以促进细胞的解离，以致细胞可以向前移动；④它可以释放刺激细胞迁移的细胞外信号蛋白。

有三种基本的机制来保证蛋白酶对基质组分的降解是受严谨控制的

局部活化（local activation）：许多蛋白酶被分泌时都是没有活性的前体，当需要时才局部激活。如血纤维蛋白溶酶原（plasminogen），在血液中有大量的非活性的前体。它在局部细胞被称作血纤维蛋白溶酶原激活剂（plasminogen activator）的其他蛋白酶水解，产生活性丝氨酸蛋白酶——血纤维蛋白溶酶（plasmin），它可以分解血液凝块。组织类纤维蛋白溶酶原激活剂（tissue-type plasminogen activator，tPA）经常给缺血性脑中风或心脏病发作的患者使用，它能帮助溶解引起病发的动脉中血液凝块，因此恢复流向组织中的血流。

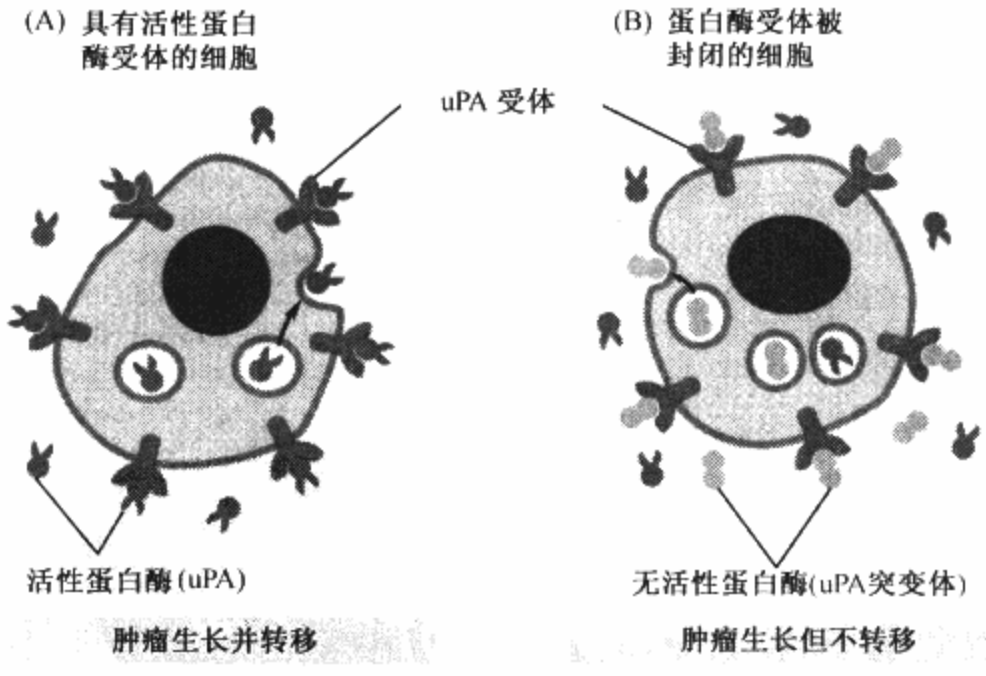


图 19-63　结合在细胞表面受体上蛋白酶的重要性

（A）人前列腺癌细胞合成并分泌丝氨酸蛋白酶 uPA，该酶结合在细胞表面 uPA 受体上。（B）同样的细胞已经转染了编码无活性 uPA 的 DNA，这种 uPA 没有蛋白酶活性，但是能与膜表面 uPA 受体结合。通过结合大部分的 uPA 受体，无活性 uPA 就阻止正常的 uPA 结合到细胞表面上。这两类细胞都分泌活性 uPA，并且生长迅速，当把其注射入实验动物体内时，都会导致肿瘤产生。但是，相对于（B）中细胞，（A）中细胞扩散范围大。通过血液扩散，肿瘤细胞必须在基膜和其他的胞外基质上爬行而进出血管。这个实验表明蛋白酶必须结合到细胞表面，才能介导细胞在基质中的迁移

封闭细胞表面受体（confinement by cell-surface receptor）：许多细胞在其表面有受体，可以结合蛋白酶，因此把酶限制在需要的位点。例如，另一种血纤维蛋白溶酶原激活剂是尿激酶类血纤维蛋白溶酶原激活剂（urokinase-type plasminogen activator，uPA），它与轴突的生长锥和一些迁移细胞的前导边缘上的受体结合，可能用以为细胞迁移开辟一个通道。结合受体的 uPA 也有助于一些癌细胞的扩散（图 19-63）。

分泌抑制剂：蛋白酶的作用被各种分泌的抑制剂限定在特定的区域，包括金属蛋白酶的组织抑制剂（tissue inhibitors of metalloprotease，TIMP）和丝氨酸蛋白酶抑制剂 Serpins。这些抑制剂是蛋白酶特异的，与活化的蛋白酶紧密结合，阻止它的活性。一个引人注目的想法是，抑制剂被细胞分泌在蛋白质降解区域的边缘，以保护没有卷入的基质；它们可能也保护为细胞迁移和细胞连接所必需的细胞表面蛋白。TIMP 的过量表达抑制某些类型细胞的迁移，从而说明了金属蛋白酶对迁移的重要性。

小结

结缔组织中的细胞植被于复杂的细胞外基质中，细胞外基质不仅使细胞结合在一起，而且还影响细胞的生存、发育、形状、极性和行为。基质包含多种蛋白纤维，这些纤维编织成由黏多糖（GAG）链网络组成的含水的凝胶。

GAG 是由带负电的多糖链组成的不同组合，这些多糖链（透明质酸除外）与蛋白质共价连接形成蛋白聚糖分子。它们形成含水凝胶，占据大部分的细胞外空间。蛋白聚糖也发现于细胞表面，在这里它们作为辅助受体发挥作用，帮助细胞对分泌的信号蛋白做出应答。

纤维状蛋白巩固了基质并赋予它形状。它们也给细胞提供黏附的表面。弹性蛋白分子形成广阔的可以伸展收缩的纤维交联网，赋予基质以弹性。纤维胶原（类型Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅴ和Ⅺ）是绳状的、三股螺旋分子，在细胞外空间中聚集成长的原纤维。原纤维可以装配成各种高度有序的排列。结合原纤维的胶原分子，如类型Ⅸ和Ⅻ，装饰胶原原纤维的表面，影响原纤维间和原纤维与其他基质组分间的相互作用。

相比较而言，类型Ⅳ胶原分子装配成层状的网络结构，是所有成熟基膜的重要组分。所有基膜以层粘连蛋白分子形成的网络为基础。在成熟基膜中，胶原和层粘连蛋白网络被巢蛋白和大的硫酸类肝素蛋白聚糖渗滤素桥联在一起。纤连蛋白和层粘连蛋白都是大的、多结构域的基质糖蛋白的例子。通过它们多样的结合结构域，这类蛋白有助于基质的装配和细胞黏附在其上。

如胶原、层粘连蛋白和纤连蛋白一类的基质蛋白，通过依赖于下面肌动蛋白皮层的过程，在产生它们的细胞表面装配成原纤维或者网络结构。基质的组织装配也可影响细胞的骨架组织装配，并且能机械地影响细胞的伸展。基质还通过结合细胞表面的受体，激活细胞内信号转导，影响细胞的行为。

基质组分被细胞外蛋白酶降解。大部分是基质金属蛋白酶，它们的活性依赖结合的 Ca^{2+} 或者 Zn^{2+}，而其他的是丝氨酸蛋白酶，在它们的活性位点有活化的丝氨酸。几种不同的机制来保证基质成分的降解是受紧密控制的。例如，细胞可以导致基质组分的局部降解，在基质中清理出一条通道。

整联蛋白

细胞外基质与细胞的连接需要跨膜连接蛋白作为基质受体，将基质固定到细胞骨架上。

虽然我们已经见到过一些作为基质组分辅助受体的跨膜蛋白聚糖，但是动物细胞上结合大部分细胞外基质蛋白（包括胶原、纤连蛋白和层粘连蛋白）的主要受体是整联蛋白。这些整联蛋白组成一类细胞-基质连接的同源跨膜受体大家族。在血细胞中，整联蛋白也作为细胞-细胞连接分子，帮助细胞与其他细胞或细胞外基质结合。

整联蛋白，和其他细胞连接分子一样，与激素和细胞外可溶性信号分子的细胞表面受体（这些受体经常以较低的亲和力与它们的配体结合，并且以十倍到百倍的浓度分布在细胞表面）不同。如果结合太牢，细胞可能会不可逆地与基质胶合在一起而不能移动，但如果细胞附着是依赖于大量的微弱结合作用，就不会出现这种问题。这是前面提到的 Velcro 原理的一个例子。然而，和其他跨膜细胞连接蛋白一样，整联蛋白并不仅仅是把细胞附着在其周围的基质上，它们还激活细胞内信号通路，向细胞传达与之结合的基质的特性。

整联蛋白是跨膜异源二聚体

整联蛋白非常重要，因为它们是细胞用来结合和应答细胞外基质的主要受体。整联蛋白分子由两个非共价键结合的跨膜糖蛋白亚基——α 和 β 亚基组成［图 19-64 和图 19-12（B）］。因为同样的整联蛋白分子在不同类型的细胞中具有不同的配体结合特性，所以另外的细胞类

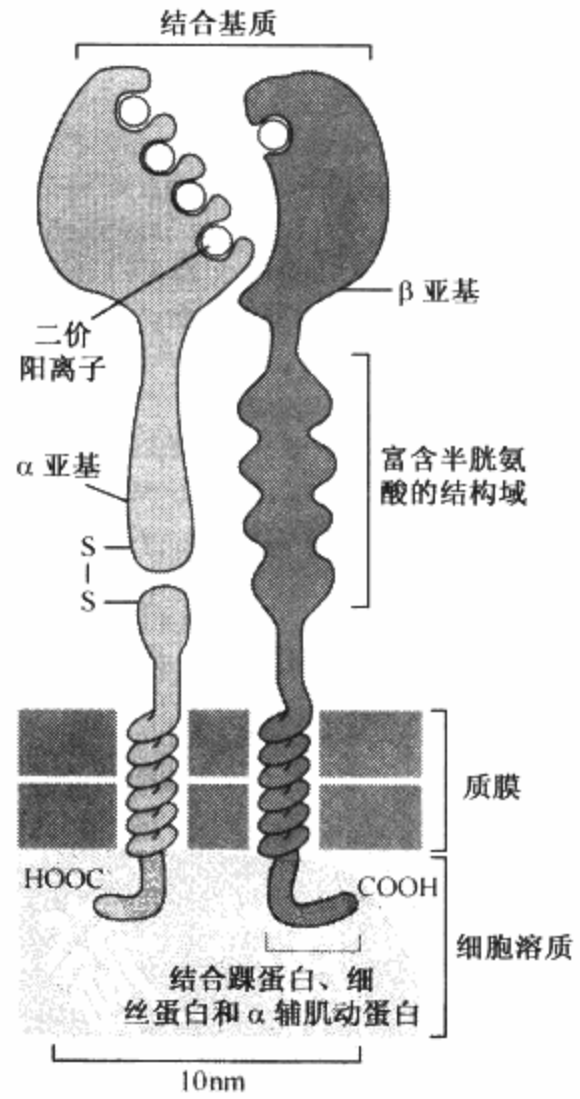


图 19-64　细胞表面上基质受体整联蛋白亚基的结构

被分离的受体的电镜照片，图中显示了分子的大致形貌，它的球状头部从脂双层伸出 20nm 左右。通过与胞外基质蛋白和胞内微丝蛋白（通过锚定蛋白介导）的连接［图 19-12（B）］，整联蛋白可作为一个跨膜的连接蛋白。α 和 β 亚基通过非共价键相连。在图中显示的纤连蛋白受体中，α 亚基最初由分子质量为 140 000Da 的多肽组成，但后来被剪切为一个小的跨膜结构域和一个大的含有 4 个二价阳离子结合位点的胞外结构域；两个结构域通过一个二硫键而连接起来。β 亚基的胞外结构域含有 1 个二价阳离子的结合位点，该亚基还有富含半胱氨酸区的重复，极易形成链内二硫键

型特异因子似乎能够与整联蛋白相互作用，以调节它们的活性。

整联蛋白与它们的配体结合，依赖于细胞外二价阳离子（Ca^{2+} 或者 Mg^{2+}，依赖于不同的整联蛋白），表明了 α 和 β 亚基的细胞外部分具有二价阳离子结合结构域。二价阳离子的类型可以影响整联蛋白与配体结合的亲和度和特异性。

脊椎动物中，许多基质蛋白质被多种整联蛋白识别。例如，至少 8 种整联蛋白与纤连蛋白结合，至少有 5 种与层粘连蛋白结合。人类的各种整联蛋白异源二聚体是由 9 种 β 亚基和 24 种 α 亚基形成的。这种多样性可以通过一些整联蛋白 RNA 的选择性剪接，得到进一步增加。一些研究比较清楚的整联蛋白，在表 19-6 种列了出来。

表 19-6　整联蛋白的类型

整联蛋白	配体	分布
$\alpha_5\beta_1$	纤连蛋白	普遍存在
$\alpha_6\beta_1$	层粘连蛋白	普遍存在
$\alpha_7\beta_1$	层粘连蛋白	肌肉
$\alpha_L\beta_2$（LFA-1）	Ig 超家族反受体	白细胞
$\alpha_2\beta_3$	纤维蛋白原	血小板
$\alpha_6\beta_4$	层粘连蛋白	上皮细胞半桥粒

注：列表中不包含所有配体

β_1 亚基至少与 12 种不同的 α 亚基形成二聚体。它们发现于几乎所有的脊椎动物细胞中：例如，在许多细胞上，$\alpha_5\beta_1$ 是纤连蛋白受体，$\alpha_6\beta_1$ 是层粘联蛋白受体。不能合成任何整联蛋白 β_1 亚基的突变老鼠在植入时就死亡，而只是不能合成 α_7 亚基（肌肉中 β_1 的搭档）的老鼠则能生存，但是会发生肌肉萎缩症（和不能生成层粘联蛋白配体 $\alpha_7\beta_1$ 整联蛋白的老鼠一样）。

β_2 亚基与至少 4 种类型的 α 亚基形成二聚体。它们只在白细胞表面表达，使这些细胞能够抵抗感染。β_2 整联蛋白主要介导细胞-细胞而不是细胞-基质相互作用，与其他细胞上的特异配体结合，如内皮细胞。配体，有时指反受体（counterreceptor），是我们前面讨论过的细胞黏着分子的 Ig 超家族成员。例如，β_2 整联蛋白使白细胞迁移出血管到达感染位点，并且使它们在感染位点与内皮细胞牢固结合［图 19-30（B）］。有被称为白细胞黏着缺陷（leucocyte adhesion deficiency）的遗传病的患者不能合成 β_2 亚基。结果，它们的白细胞缺少完整的 β_2 家族受体，因此经常遭受重复的细菌感染。

β_3 整联蛋白发现于各种细胞中，包括血小板中。它们与几种基质蛋白结合，包括成纤维蛋白。血小板在凝血时与成纤维蛋白相互作用，有 Glanzmann's 病（Glanzmann's disease）的患者，它们的 β_3 整联蛋白基因有缺陷，经常流血不止。

整联蛋白必须与细胞质骨架相互作用才使细胞与细胞外基质结合

整联蛋白作为跨膜连接子（或者整合子，integrator）发挥作用，介导细胞骨架与细胞外基质的相互作用，使细胞紧连基质。大部分整联蛋白与肌动蛋白纤维束连接。半桥粒中发现的 $\alpha_6\beta_4$ 整联蛋白是个例外，它与中间纤维连接。典型的整联蛋白与基质中的配体结合后，β 亚基的细胞质尾与几个细胞内的锚定蛋白结合，包括 α 辅肌动蛋白、踝蛋白和细丝蛋白。这些锚定蛋白能直接与肌动蛋白或者其他的锚定蛋白结合，如黏着斑蛋白，因此在细胞皮层中把整联蛋白与肌动蛋白丝相连。在正常的情况下，这些连接导致整联蛋白的簇集和在细胞与细胞外基质间形成黏着斑，正如我们前面所讨论的。

如果运用 DNA 重组技术将 β 亚基的细胞质结构域删除，缩短的整联蛋白仍然与它们的配体结合，但是它们不再介导牢固的黏着，并且在黏着斑处不能簇集。似乎是整联蛋白必须与细胞质骨架相互作用，才能将细胞与基质牢固结合，就像钙黏素必须与细胞质骨架相互作用，才能有效地将细胞维持在一起一样。细胞质骨架的结合，可能有助于整联蛋白的簇集，提供更强的聚合黏合；它可能还锁住了允许整联蛋白与其配体结合更紧的构象。

和钙黏素能够促进细胞-细胞黏着而不形成成熟黏着带一样，整联蛋白也可以介导细胞-基质黏着而不形成成熟黏着斑。然而，在这两种情况下，跨膜连接蛋白可能仍然与细胞质骨架结合。对于整联蛋白来说，当细胞伸展或迁移时，就形成这种黏附，并且它导致黏着斑复合物（focal complex）的形成。在许多伸展良好的细胞，这种复合物成熟为黏着斑，但需要一种小的 GTP 酶 Rho 的激活。Rho 的激活导致更多的肌动蛋白丝和整联蛋白被募集到接触位点（在第 16 章讨论）。

细胞调节它们整联蛋白的活性

我们下面将讨论整联蛋白的簇集是如何激活细胞内信号通路的。但是信号传导反过来也能作用于整联蛋白：细胞内产生的信号能增强或抑制整联蛋白与它们细胞外配体结合的能力（图 19-65）。对这个调节过程了解的还很少，但是可能涉及整联蛋白细胞质尾的磷酸化，或细胞质尾与细胞质激活蛋白的结合，或者两者都有。

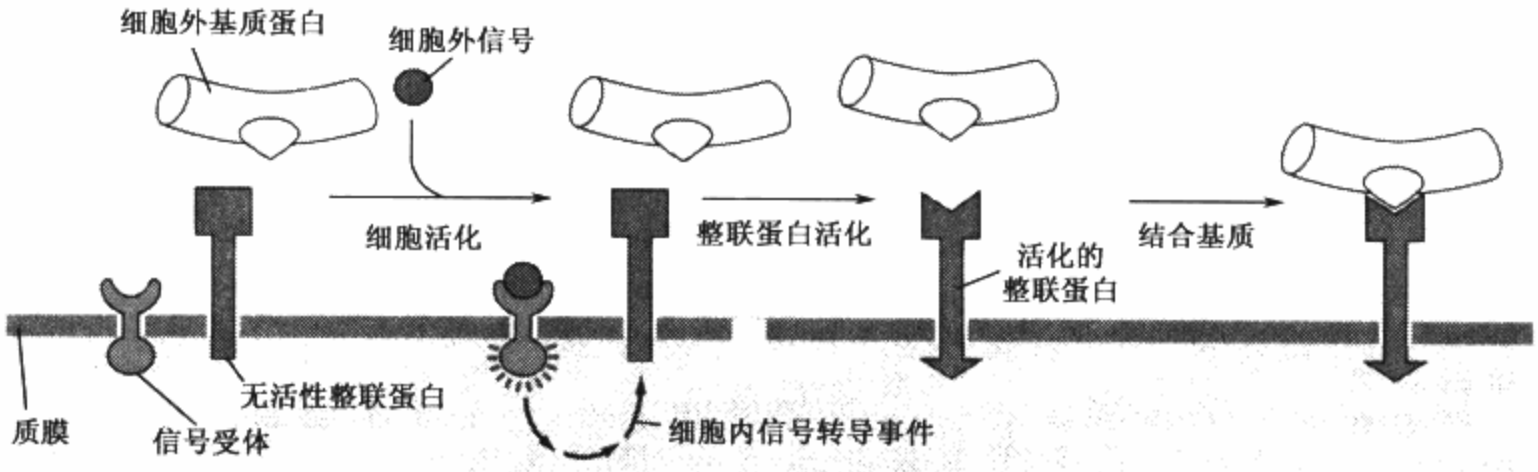


图 19-65　细胞整联蛋白的胞外结合能力的胞内调控

在这个例子中，胞外信号激活了胞内级联的信号通路，然后改变整联蛋白的构象，从而使它的胞外结合结构域能够介导细胞黏着。但是构象改变的分子机制目前了解很少

细胞从细胞内来调控整联蛋白-配体相互作用的能力称为内-外信号转导（inside-out signaling）。在白细胞和血小板中，这是尤其重要的，在这里，整联蛋白必须激活后才能介导黏着。在大部分其他细胞中，整联蛋白通常被保持在能够介导附着的状态。可调节的黏着允许白细胞顺利循环，直到它们受到相应的刺激而被激活。因为整联蛋白不需要重新合成，所以信号黏着反应可以很迅速。例如，与受损的血管壁接触或各种可溶性信号分子都可以激活血小板。在任一种情况下，刺激启动了细胞内的信号转导，并迅速激活血小板膜上的 β_3 整联蛋白。这就诱导了整联蛋白细胞外结构域的构象变化，使其能以更高的亲和力与血液凝集蛋白纤维蛋白原结合。纤维蛋白原把血小板连接在一起，形成血小板塞，阻止血液外流。

同样地，T 淋巴细胞与抗原呈递细胞上的特异抗原进行微弱结合（在第 24 章讨论），就启动了 T 细胞内的信号转导，激活细胞内的 β_2 整联蛋白。而激活的 β_2 整联蛋白使 T 细胞能够与抗原呈递细胞紧密结合，保持足够长的接触时间，直到完全激活。然后整联蛋白能恢复到

非活性状态，允许 T 细胞脱离。

有些时候，特别是在发育过程中，除血细胞外的细胞也调节它们的整联蛋白的活性。例如，如果一个具有组成性活性的整联蛋白（通过删除 α 亚基细胞质尾）在正在发育的果蝇胚胎中表达，它就破坏了正常的肌肉发育。表达活化的整联蛋白的肌肉前体细胞不能从基质上脱离，因此不能正常迁移。

整联蛋白激活细胞内的信号通路

我们已经讨论了整联蛋白作为跨膜连接子，如何连接细胞外基质分子和细胞皮层内的肌动蛋白纤丝，并如何调节细胞的形状、方向定位和运动。但是，整联蛋白在与基质（或另外的细胞）接触的位点上簇集，也能激活细胞内信号通路。信号转导起始于质膜细胞胞质面上的信号复合物的装配，和常规的信号传导受体介导的信号传导非常相似（在第 15 章讨论）。

然而，激活的整联蛋白和激活的常规信号传导受体一样，能够诱导整个细胞的应答，一般包括基因表达的改变，激活的整联蛋白尤其善于刺激接近细胞-基质连接处的细胞质的局部改变。这可能是通过跨膜黏着蛋白进行信号转导的普遍特征。例如，在神经系统的发育过程中，轴突顶端的生长主要由它对局部黏着（和排斥）信号的应答来引导。一般认为黏着蛋白的主要效应，是由在轴突顶端局部作用的细胞内信号通路的激活产生的，而不是通过细胞-细胞黏着本身或者信号传达到细胞内。

整联蛋白的许多信号转导功能，依赖于一种被称为**黏着斑激酶（focal adhesion kinase, FAK）**的细胞质蛋白酪氨酸激酶。在培养的细胞中，黏着斑是酪氨酸磷酸化最主要的位点（图 17-50），并且 FAK 是在黏着斑（虽然它也能与常规的信号受体结合）中发现的主要的酪氨酸磷酸化蛋白之一。当整联蛋白在细胞-基质接触处簇集时，FAK 通过细胞内锚定蛋白被募集到黏着斑处，细胞内锚定蛋白有踝蛋白，与整联蛋白 β 亚基结合，或者桩蛋白（paxillin），与一种整联蛋白 α 亚基结合。簇集的 FAK 分子在特异的酪氨酸上交叉磷酸化，为细胞质酪氨酸激酶 Src 家族成员创造磷酸化酪氨酸停靠位点。这些激酶然后磷酸化 FAK 上其他的酪氨酸，为各种细胞内信号蛋白创造停靠位点；它们也磷酸化黏着斑处的其他蛋白质。通过这种方式，信号被传递到细胞内（如第 15 章所讨论的）。

研究 FAK 功能的一个方法是检测缺少该蛋白质的老鼠突变体中的黏着斑。FAK 缺陷的成纤维细胞仍然黏附在纤连蛋白上形成黏着斑。令人惊奇的是，它们能形成太多的黏着斑，结果，细胞伸展和细胞迁移变得迟缓（图 19-66）。这个意外的发现表明，FAK 通常有助于黏着斑的去装配，这种黏着的丧失对正常的细胞迁移是必须的。通过与常规信号转导受体和黏着斑相互作用，FAK 可以偶联迁移信号，改变细胞中的黏着。许多癌细胞具有高水平的 FAK，这有助于解释为什么癌细胞通常比它们的正常细胞具有更强的运动能力。

整联蛋白和常规信号转导受体能够以几种方式共同起作用。由常规信号转导受体激活的信号转导路径，能够增加整联蛋白或者细胞外基质分子的表达，而由整联蛋白激活的信号转导路径，可以增加常规信号转导受体或者与之结合的配体的表达。细胞内信号转导路径自身也能够相互作用，彼此加强。例如，虽然一些常规信号转导受体和整联蛋白能够单独激活 Ras/MAP 激酶途径（图 15-56），但是它们经常一起作用，使这条途径处于长时间的活化状态，以诱导细胞的增殖。整联蛋白和常规信号转导受体协同刺激许多类型的细胞应答。例如，培养中的许多细胞应答细胞外的生长因子，但并不进行生长或增殖，除非细胞通过整联蛋白与细胞外基质分子附着。有些类型的细胞，包括上皮细胞、内皮细胞和肌肉细胞，甚至细胞生存也依赖于整联蛋白介导的信号转导。当这些细胞失去与细胞外基质的联系时，它们进行

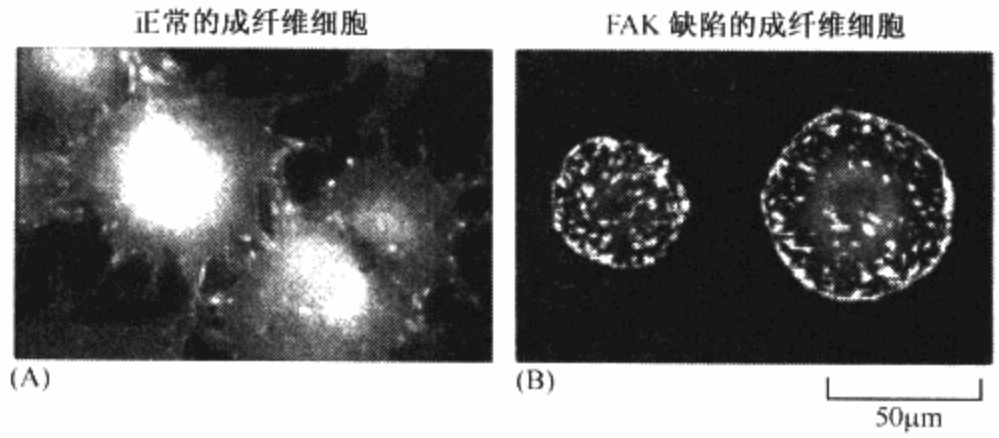


图 19-66　FAK 缺陷的成纤维细胞含有过量的黏着斑连接

正常细胞和 FAK 缺陷的细胞同时被黏着斑蛋白抗体染色以显示黏着斑的位置（图 19-12）。（A）正常的成纤维细胞黏着斑较少，培养 2h 后，细胞扩散开来。（B）同时，FAK 缺陷的成纤维细胞含有大量的黏着斑，并且不会扩散（摘自 D. Ilic et al.，*Nature* 377：539～544，1995. © Macmillan Magazines Ltd.）

程序性细胞死亡，或者细胞凋亡。这种生存和增殖对于细胞外基质附着的依赖性可能有助于保证细胞只有在其适当的位置才进行生长增殖，这样可以帮助动物防止癌细胞的扩散。附着依赖的细胞生存在胚胎发育中有特殊的作用，如图 19-67 所示。整联蛋白激活的信号转导途径能促进细胞的生存，和那些由常规信号转导受体激活的信号传导途径非常相似，正如在第 15 章和第 17 章所讨论的一样。

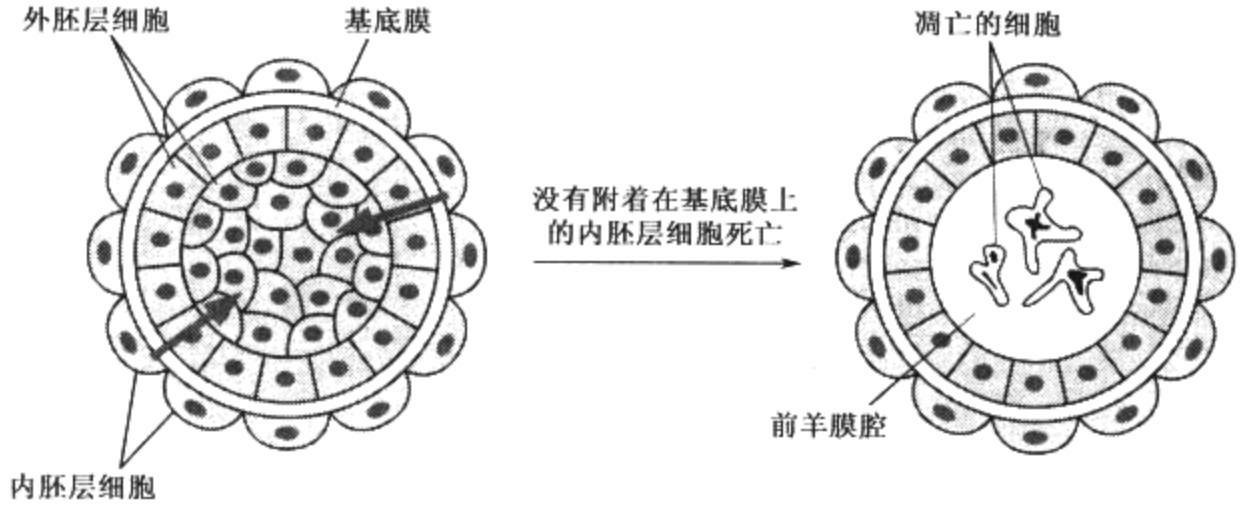


图 19-67　在羊膜腔形成中基质依赖的细胞存活

一般认为内胚层细胞能产生一种信号（红色箭头显示）而导致外胚层细胞进行细胞凋亡而死亡。然而，与基底膜接触的外胚层细胞被基底膜上的基质分子的促活作用拯救而不发生细胞凋亡，而其他的外胚层细胞会发生细胞凋亡，形成羊膜腔（摘自 E. Coucouvanis and G. R. Martin，*Cell* 83：279～287，1995）

本章中讨论的细胞黏着分子在表 19-7 中做了总结。

表 19-7　细胞黏着分子家族

	家族成员	Ca^{2+} 或者 Mg^{2+} 依赖性	同亲性或者异亲性	相关的细胞质骨架	相关的细胞连接
细胞-细胞黏着					
经典钙黏素	E、N、P、VE	是	同亲性	微丝（通过连环蛋白介导）	黏着带
桥粒钙黏素	桥粒芯蛋白	是	同亲性	中间纤维（通过桥粒斑蛋白、桥粒斑珠蛋白和其他蛋白质为介导）	桥粒

续表

	家族成员	Ca^{2+} 或者 Mg^{2+} 依赖性	同亲性或者异亲性	相关的细胞质骨架	相关的细胞连接
Ig 家族	神经细胞黏着分子	否	兼有	研究得不清楚	无
选择素（仅血细胞和内皮细胞）	L、E、P 类选择素	是	异亲性	微丝	无
血细胞整联蛋白细胞基质黏着	$\alpha_L\beta_2$（LFA-1）	是	异亲性	微丝	无
整联蛋白	很多种	是	异亲性	微丝（通过踝蛋白、细丝蛋白 α-辅肌动蛋白和黏着斑蛋白介导）	黏着斑
	$\alpha_6\beta_4$	是	异亲性	中间丝（通过网蛋白）	半桥粒
跨膜蛋白聚糖	多配体蛋白聚糖	否	异亲性	微丝	无

小结

整联蛋白是动物细胞用来结合细胞外基质的主要受体。它们是异源二聚体，作为细胞外基质与细胞质骨架之间的跨膜连接子发挥作用。一个细胞可以从细胞内调节其整联蛋白的黏着活性。整联蛋白也可作为信号传感器发挥作用，当通过结合基质被活化后，可以激活各种细胞内信号转导途径。整联蛋白和常规信号转导受体经常协同作用，促进细胞的生长、生存和增殖。

植物细胞壁

植物细胞壁是植物中围绕每一个细胞的精巧的细胞外基质。它是厚的木质的细胞壁，在最原始的显微镜下也能看见，这种显微镜使罗伯特·胡克在 1663 年第一次分辨和命名了细胞。相邻植物细胞的细胞壁牢固地结合在一起形成完整的植株（图 19-68）。植物细胞壁一般比动物细胞产生的细胞基质更厚，更坚固，最重要的是更加具有刚性。早期植物的细胞进化出比较刚性的细胞壁，有时可达到几个毫米厚，因此丧失了蠕动的能力，开始采用第二种生存方式，并且现在的所有植物都在坚持着这种生存方式。

细胞壁的成分依赖于细胞类型

植物中所有细胞的细胞壁都起源于分裂的细胞，因为在胞质分裂中形成细胞板成为子代细胞间新的阻隔壁（在第 18 章讨论）。新细胞壁经常在被称为分裂组织（meristem）的特定区域产生（在第 21 章讨论），并且它们相比于最终的大小一般较小。为了允许随后的细胞生长，它们的称为**初生细胞壁（primary cell wall）**的壁虽然比较坚韧，但是较薄，而且可以伸展。一旦停止生长，细胞壁就不再需要具有伸展的特性，有时初生细胞壁不经过主要修饰。但是更常见的是，通过在旧层内沉积新层，形成一个刚性的**次级细胞壁（secondary cell wall）**。这些次级细胞壁的组成可能与初级细胞壁的相似，也可能显著不同。在次级细胞壁中，最常见的加聚型多聚体是木质素（lignin），它是酚化合物的复杂网状结构，存在于木质部导管的细胞壁和木质组织的纤维细胞的细胞壁中。因此，植物细胞壁在支持植物结构中具有“骨架”功能，保护细胞的功能和转运功能，可以帮助在细胞间形成通道，以便于植物中的液体流动。当植物细胞变得特化时，它们一般采用特化的形状，产生相应的特化细胞壁。根据细胞壁特化的类型，可以对植物中不同类型的细胞进行鉴定和分选（图 19-69，同时参见专题 21-3）。

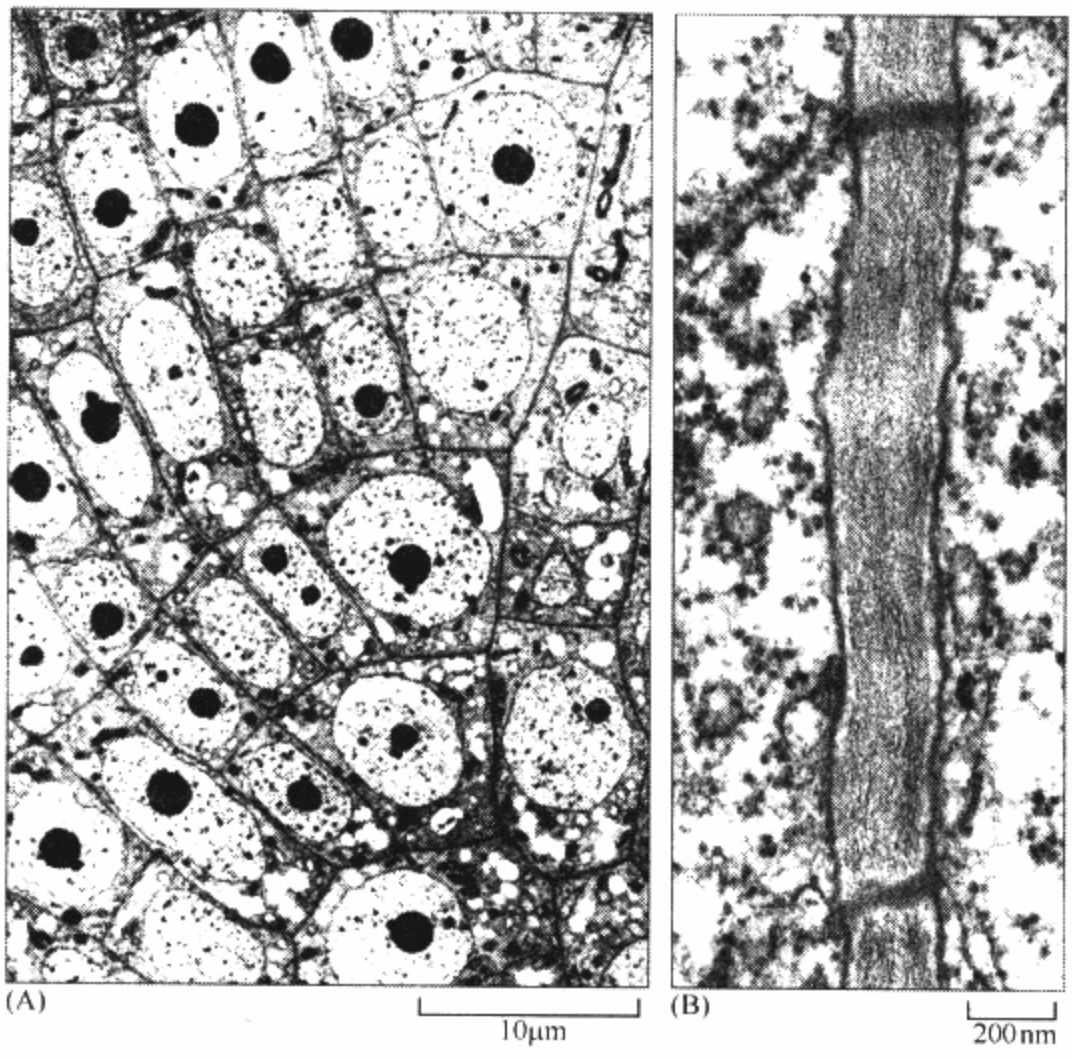


图 19-68　植物细胞壁

（A）灯芯草根尖的电镜照片，图中显示在含有较刚性细胞壁的细胞中，细胞分裂的顺序所造成的细胞排列的模式。在该生长组织中，细胞壁仍然很薄，看上去就像是细胞间的细黑线。（B）分开两个细胞的典型细胞壁的一部分结构。两条黑色横带对应于横穿细胞壁的胞间联丝（图 19-20）[（A）摘自 courtesy of C. Busby and B. Gunning, Eur. J. Cell Biol. 21：214～233，1980；（B）摘自 courtesy of Jeremy Burgess.]

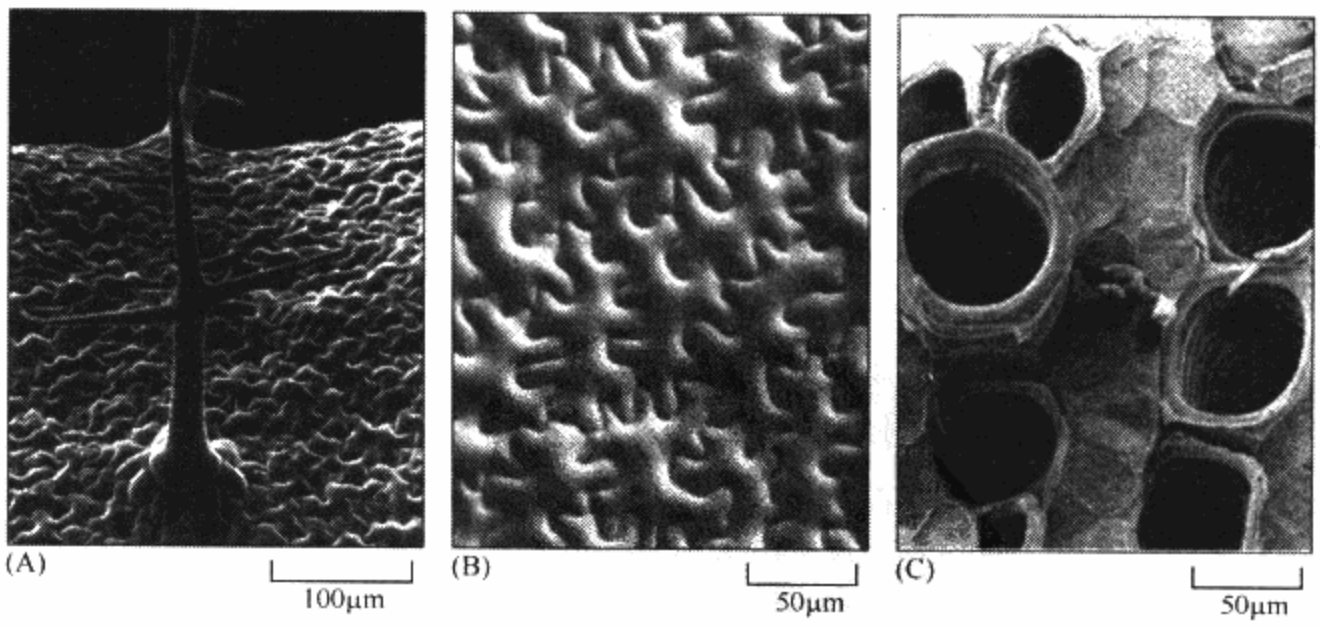


图 19-69　具有细胞壁被修饰的特异类型细胞

（A）拟南芥叶子上表面的毛状体。这个尖的具有保护性的细胞形状是由富含纤维素的坚硬细胞壁的局部沉积所造成的。（B）番茄叶子表皮细胞的表面。这些细胞像七巧板拼图一样紧密结合，为叶子提供了坚硬的外被。细胞壁外坚硬的表皮蜡质不仅不透水，还可以防止病原菌侵入。（C）木质部发育早期的成分。图中显示了厚的、木质化的、高度环化的次级细胞壁，它为植物创造了运输水分的导管[（A）摘自 courtesy of Paul Linstead；（B）and（C）摘自 courtesy of Kim Findlay.]

虽然高等植物细胞壁在组成和组织装配上有很大变化，但是它们和动物细胞外基质一样，对所有纤维复合物来说，包括“玻璃纤维”和“混凝土”，采取共同的结构原则来进行构建。一种组分提供抗张能力，而另一种组分提供抗压能力，前一种组分经常植入后一种组分中。这种在植物和动物中抗张压的机制是一样的，但是在两者中起作用的细胞成分是不一样的。不像动物细胞外基质富含蛋白质和其他含氮的多聚体，植物细胞几乎完全是由不含氮的多聚体构成的，包括纤维素（cellulose）和木质素。在树木中，对它的生物量贡献最大的就是纤维素和木质素。对于依靠 CO_2、H_2O 和阳光的固生生物来说，纤维素和木质素是“廉价”的碳基结构材料，可以帮助这些生物储藏对植物生长很关键的稀少的土壤中固定态氮元素。

在高等植物的细胞壁中，弹性纤维的主要成分是多聚糖纤维素，它们是地球上最丰富的有机大分子，通过多聚糖分子（cross-linking glycan）相互交联形成一个网状结构。在植物初生壁中，纤维素网状结构埋在富含果胶质（pectin）的基质中，而果胶质是由富含半乳糖醛酸的多聚糖形成的一个高度含水的网状结构。次生细胞壁还含有其他的组分，如木质素，它很坚硬，并且填补了其他组分之间的空隙，使得次生细胞壁很坚硬并能持久存在。所有这些分子通过共价键和非共价键结合在一起，形成一个高度复杂的结构，而该结构的组成、厚度和空间结构都依赖于细胞的类型。

这里我们主要介绍了初生细胞壁和它的分子空间结构，正如我们在植物的生长部位看到的，它们为植物提供了强度、弹性和柔韧性。

植物细胞壁的抗张强度使植物细胞具有膨压

植物细胞外水化环境是由细胞壁上流体物质组成的。虽然植物细胞壁中的流体含有的溶质比植物外周环境（如土壤）含有的多，但是和细胞内环境相比还是低渗的。这种渗透压的不平衡导致了细胞产生了很大的内部静水压力或者说是**膨压（turgor pressure）**，膨压使细胞壁有膨胀的趋势，就像膨压使车胎管壁有向外膨胀的趋势一样。膨压继续增大，直到壁内外渗透压平衡，此时，尽管两边的盐成分还是不平衡，但没有净的水内流。这种压力是植物生长所必需的，因为它是植物生长时细胞扩展的主要动力，并且还为植物组织提供了机械强度。例如，失水植物枯萎的树叶和正常植物饱满的树叶相比，植物细胞壁的机械强度使植物细胞维持了内部膨压。

纤维素微原纤维与果胶多聚糖的网状结构交织形成初生细胞壁

纤维素分子为初生细胞壁提供了抗张强度。每个纤维素分子是由至少 500 个单糖分子线性链通过共价键连接形成的一个带状结构，这个结构是通过链内氢键而得以稳定的（图 19-70）。此外，相邻纤维素间的分子间氢键使它们以重叠平行排列的方式紧密结合成束，每束大约由 40 个同极性的纤维素分子组成。这种几个微米长的晶体状聚合体，我们称为**纤维素微原纤维（cellulose microfibril）**，它们具有像钢筋一样的抗张强度。许多微原纤维排列成一层一层的薄片状，这种结构里微原纤维间由聚糖分子通过氢键交联，形成有 20～40nm 的距离的间隙。由这样的片层结构组成的初生细胞壁排列成夹板状的网络结构（图 19-71）。

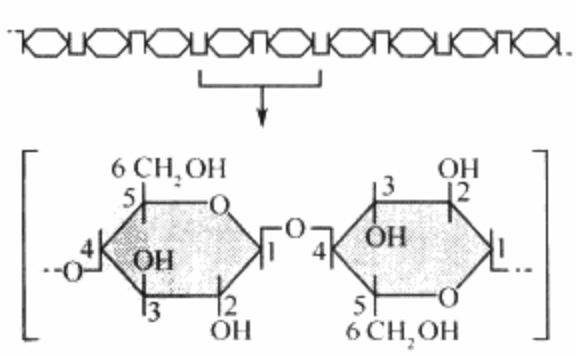


图 19-70　纤维素

纤维素分子是由 β_1，4-连接的葡萄糖组成的长直链。每个葡萄糖分子与相邻分子反向排列，这样，二糖单位可在一个分子内重复几百次

交联聚糖（cross-linking glycan）包括很多种分支聚糖，它们与纤维素微原纤维表面紧密结合，从而使微原纤维交联成复杂的空间网状结构。它们的功能类似于先前讨论过的结合原纤维的胶原（图 19-49）。有许多种交联聚糖，但是每一种交联聚糖都是由一种糖分子（如葡萄糖、木糖或甘露糖）构成的直线骨架，而其他糖分子形成的短链从这种糖分子上伸出来。直线骨架中的糖分子与纤维素微原纤维表面形成氢键并且使之交联。骨架糖分子和侧链糖分子都随着植物种类和植物发育阶段的不同而不同。

除了上述由纤维素微原纤维和交联聚糖分子而形成的空间网状结构之外，植物中还存在以果胶为基础的空间网状结构（图 19-71）。**果胶（pectin）**由许多分支聚糖组成，含有很多带负电的半乳糖醛酸单位。由于带负电荷，果胶分子是高度含水的，并且吸附了许多阳离子，这种性质类似于动物中的糖胺聚糖（图 19-37）。当钙离子加到含有果胶分子的溶液中时，钙离子就会使果胶分子交联成半凝胶状（果冻就是把果胶加入到果汁里而制成的）。有些果胶在中胶层（middle lamella）中尤其丰富，这个特化区把邻近的细胞壁层连接起来（图 19-71）；这里，钙离子帮助细胞壁物质交联在一起。尽管共价键也在组分交联中发挥了一定作用，但是我们对这种交联了解的很少。在中胶层，可调控的细胞分离在烟草成熟和秋天叶子掉落过程中都有很重要的作用。

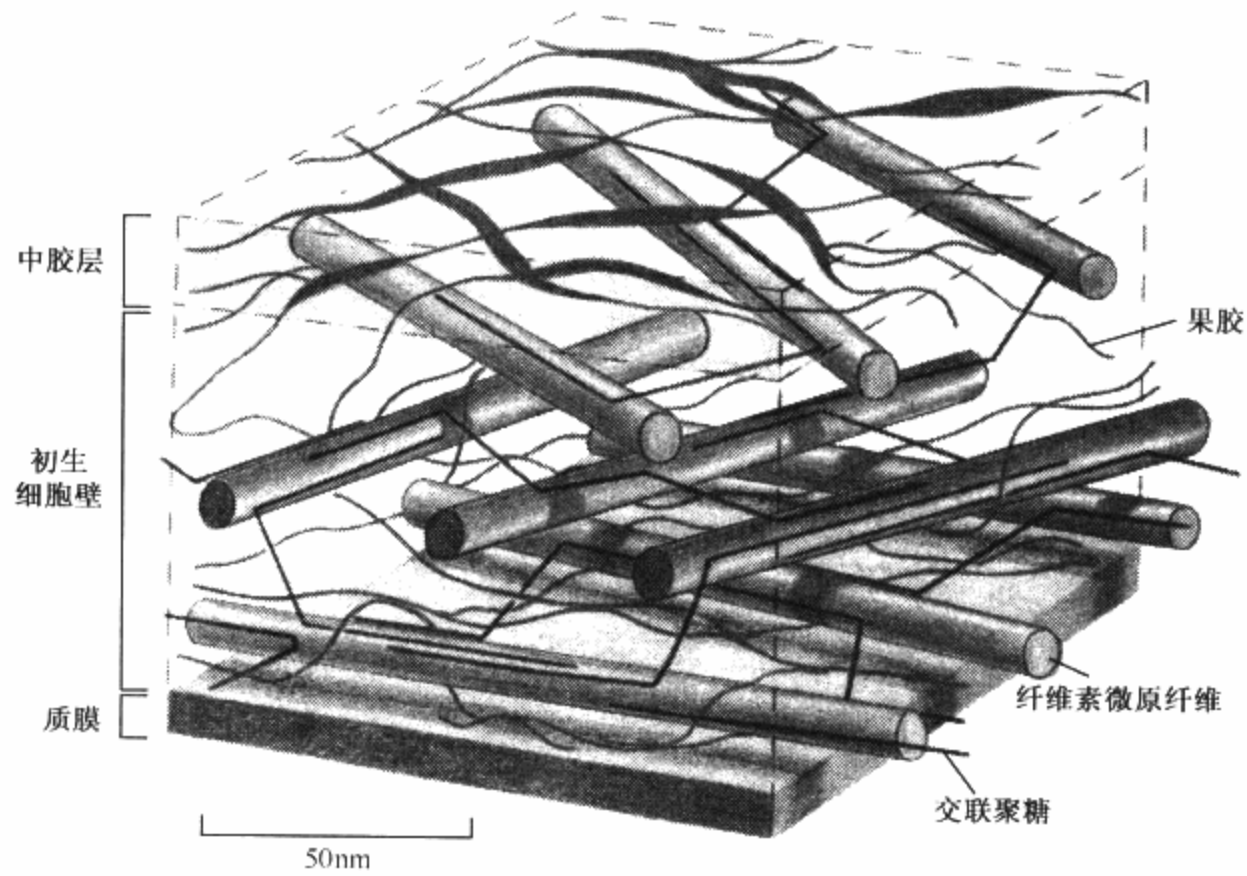


图 19-71　部分初生细胞壁的几何模型

显示了两大主要的多聚糖网状结构。垂直排列的纤维素微原纤维层（绿色）被交联聚糖分子（红色）通过氢键连结成网状结构。这个网状结构与果胶聚糖（蓝色）形成的另一网状结构交织在一起。纤维素和交联聚糖形成的网状结构赋予细胞壁抗张能力，而果胶形成的网状结构提供抗压能力。纤维素、交联聚糖和果胶质作为典型成分，在初生细胞壁中的含量都差不多。中胶层富含果胶质并把相邻的细胞连接起来

除了上述两种存在于所有植物初生细胞壁中的多聚糖构成的网状结构之外，蛋白质占细胞壁干重的 5%左右。其中许多都是酶，它们在细胞壁再生和重塑过程中发挥重要作用，特别是在植物生长中；另一类细胞壁蛋白含有很多羟化的脯氨酸，类似于动物中的胶原蛋白。一般认为这些蛋白质加固了细胞壁，而且在应对病原菌侵入时它们会大量合成。拟南芥的基

因组序列中估计有 700 多个基因对于合成、装配及重塑植物细胞壁是必要的。一些在初生细胞壁和次生细胞壁中发现的主要多聚糖列于表 19-8。

表 19-8　植物细胞壁的多聚体

多聚体	组成成分	功能
纤维素	直链葡萄糖多聚体	赋予细胞壁抗张能力
交联聚糖	木葡聚糖、glucuronoarabinoxylan、甘露糖	使纤维素微原纤维交联成坚固的网状结构
果胶	半乳糖醛酸聚糖和鼠李半乳糖醛酸聚糖	形成带负电荷、亲水的网络结构，赋予初生细胞壁抗压能力；细胞与细胞黏着
木质素	交联的葡萄糖甙、松柏醇和芥子醇	次生壁提供坚硬的防水层
蛋白质和糖蛋白	酶；富含羟脯氨酸的蛋白质	细胞壁再生和重塑，以防病原菌入侵

植物细胞要想生长或改变它们的形状，细胞壁就必须伸展或者变形。由于它们的晶体状结构，个别纤维素微原纤维不能伸展。因此，细胞壁的伸展或变形就要依靠微原纤维之间的滑动或者相邻微原纤维之间的分离，或者两者同时进行。我们下面要讨论的是，生长细胞扩展的方向部分地依赖于初生细胞壁中纤维素微原纤维的走向，反过来，微原纤维的走向又依赖于沉积细胞壁的细胞皮层下微管的走向。

微管对细胞壁沉积的导向作用

最终的植物细胞形状和最终的植物形态都是由可调控的细胞扩展决定的。膨压导致细胞扩展，而扩展的方向部分依赖于纤维素微原纤维在细胞壁中的排列方向。因此，可以通过控

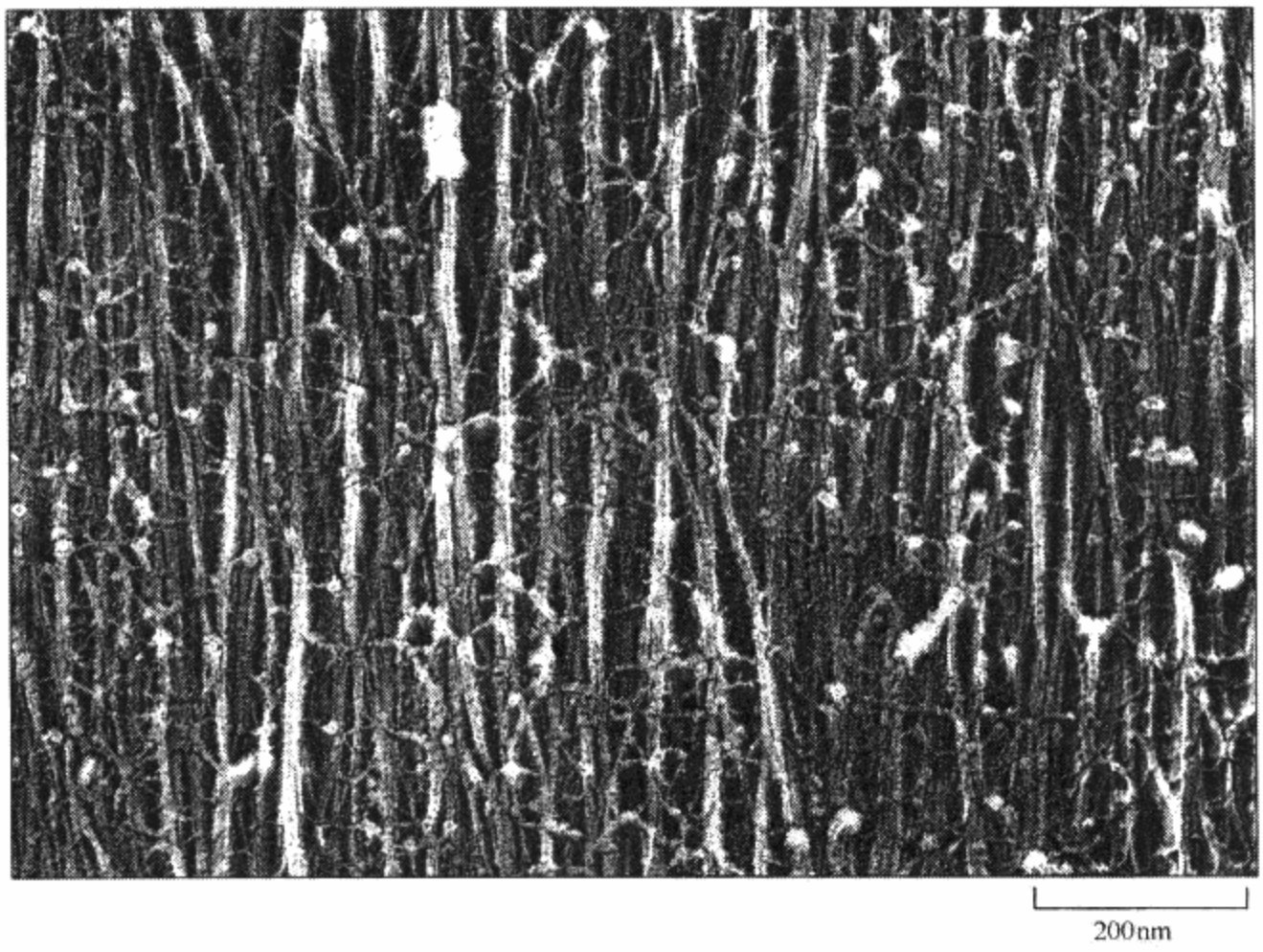


图 19-72　伸长中的胡萝卜细胞的初生壁中的纤维素微原纤维的走向

细胞壁的快速冷冻蚀刻电镜照片，显示了平行排列的纤维素微原纤维与扩展细胞的轴线垂直。微原纤维通过基质分子相互交联，并与基质分子形成的复杂网状结构交织在一起（图 19-71）（经 Brian Wells and Keith Roberts 许可）

制沉积在细胞壁上的微原纤维的走向来预测细胞未来的形态。不像大多数其他细胞外基质大分子在内质网和高尔基体内合成并分泌，纤维素同透明质酸一样，通过质膜上的纤维素合酶在细胞表面合成，而纤维素合酶以细胞质提供的 UDP-葡萄糖为底物合成纤维素。随着纤维素分子的合成，新生的纤维素分子自发聚集成微原纤维，成为质膜外表面的薄片层结构，薄片层结构中微原纤维或多或少地有相同的排列方式（图 19-71）。新形成的薄片层总是在旧片层的里面，因此，细胞壁就由许多同心圆排列的片层而组成，最先形成的片层在最外面。在正在扩展的细胞里，最近沉积的微原纤维总是与细胞扩展的轴线垂直排列（图 19-72）。尽管外片层和内片层在排列方向上是不同的，但是一般认为内片层的走向在决定细胞扩展的方向上才是最主要的（图 19-73）。

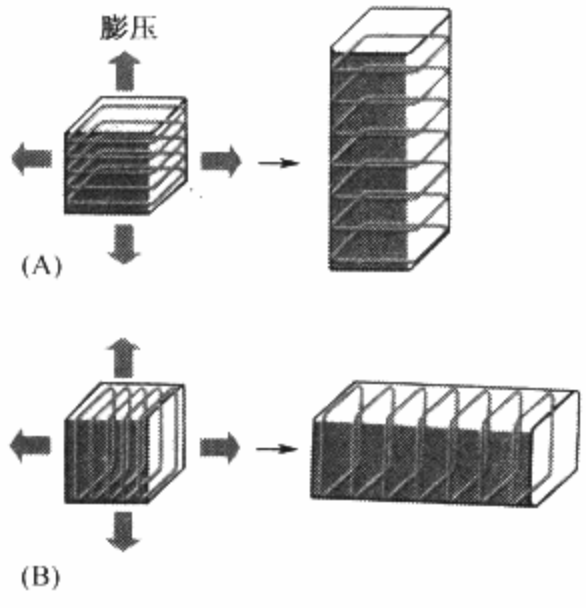


图 19-73　细胞壁中纤维素微原纤维的走向影响细胞扩展的方向

（A）和（B）细胞初始形态一样（图中一立方体显示），但是细胞壁中纤维素微原纤维的走向不一样。尽管细胞膨压在各个方向是均衡的，脆弱的细胞壁使细胞沿与微原纤维（具有很强的抗张强度）垂直的方向扩展。器官最终的形状，如芽，决定于细胞扩展的方向

阐明细胞排列方向的机制的一条重要线索来自于对植物细胞微管的观察。皮质细胞质内微管的排列方向同该部位微原纤维的排列方向是一致的。这些皮层的微管通过非特异性的蛋白质形成了靠近质膜胞质面的皮质排列（cortical array）（图 19-74）。皮质微管（恰好在质膜内）与纤维素微原纤维（恰好在质膜外）一致的排列方向发现于许多类型的植物细胞中，并且在初生细胞壁沉积和次生细胞壁沉积中都存在，也表明了它们之间有因果关系。

用微管解聚的特异药物处理植物组织，整个皮质微管系统就被解聚，那么接下来的纤维素沉积不再按照我们期盼的而有规律沉积，变得无章可循。但是该药物处理却并不影响新的纤维素微原纤维的产生，有些情况下，细胞可以继续按照原先的方向沉积新的微原纤维。然而，任何的在连贯的薄片层间可以正常发生的微原纤维模式的发育变化，在这些被处理的细胞中总是被阻止了。好像是：甚至在微管不存在的情况下，微原纤维原先的走向仍然可以得到传播，但是纤维素微原纤维沉积的变化需要完整的微管来为它指定新的方向。

这些发现与下面的模型是一致的。一般认为植入质膜的纤维素合酶复合物织成长的纤维素分子。随着纤维素分子的合成和它们自装配成微原纤维的进行，微原纤维远端总是与细胞壁中原先的薄片层交联，从而整合进细胞壁的结构中。在微原纤维形成的过程中，微原纤维近端的合成复合物需要沿着合成的方向在质膜上移动。由于合成的纤维素微原纤维的刚性，微原纤维层倾向于以与前一层同样的方向从质膜上被拉长，而纤维素合酶复合物以原先存在的细胞外微原纤维的走向作为其移动的方向。然而，细胞壁内的微管走向，可以改变合酶复合物的移动方向：它们可以像河岸约束水流动方向一样，约束合酶复合物的移动方向（图 19-75）。从这点上讲，纤维素的合成可以脱离微管而独立进行，但当皮质微管存在于合酶复合物移动的细胞膜区域时，就在空间限制了它们的合成。

植物细胞可以通过改变皮质内微管的走向而改变自身扩展的方向。在植物发育中，由于植物细胞不能移动（被细胞壁所限制），多细胞植物的完整形态主要依赖于控制皮质内微管的方向。虽然微管的组织装配能应答细胞外刺激而迅速地调整方向，这些刺激的因子包括一些低分子质量的植物生长调节因子，如乙烯和赤霉素，但仍然不清楚它们是如何控制的（图 21-113）。

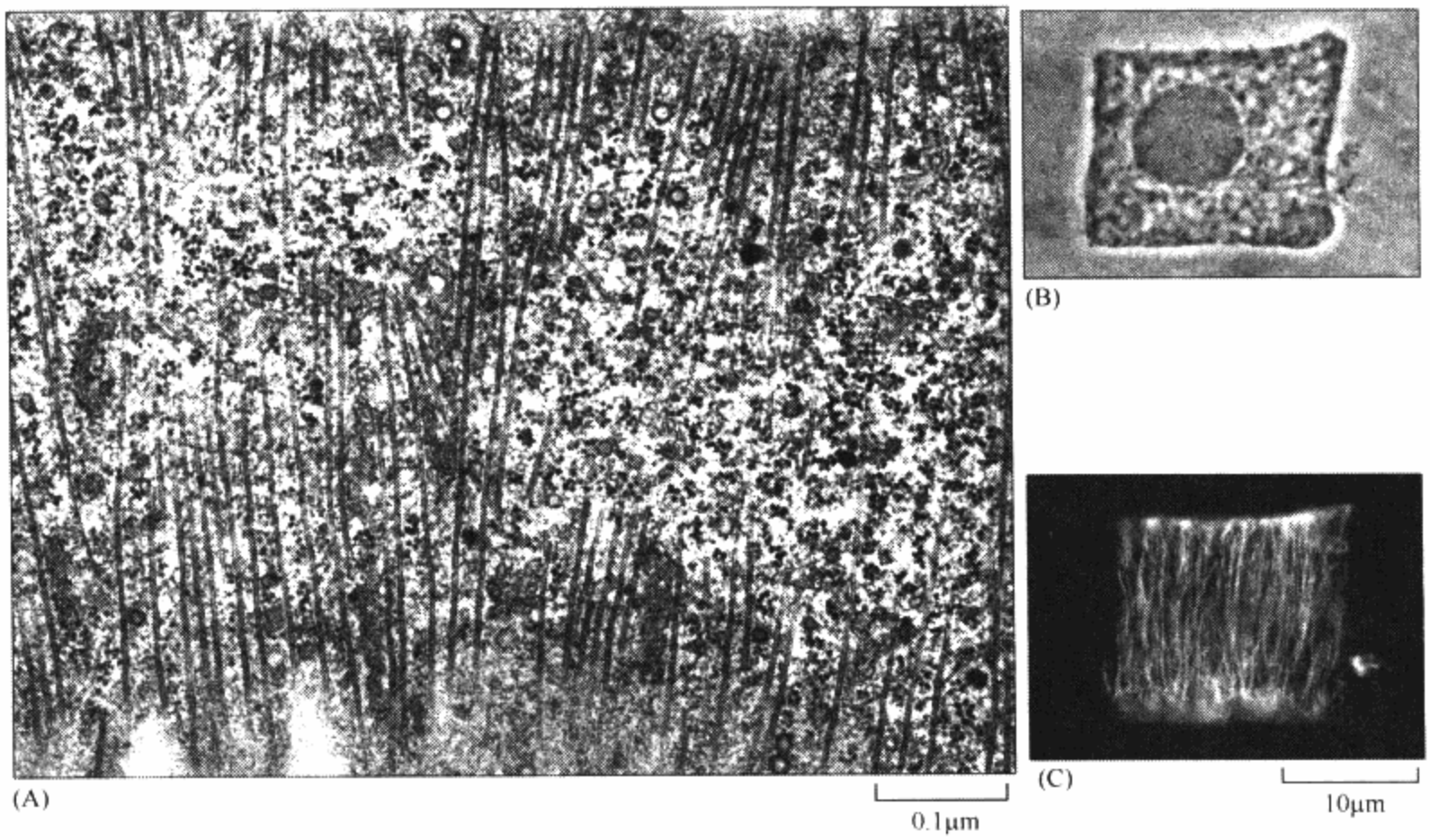


图 19-74　植物细胞壁中微管的皮质排列

（A）Timothy 牧草细胞的根尖部分，显示了质膜下面微管的皮质排列。微管方向与细胞长轴方向垂直。（B）分离的洋葱根尖细胞。（C）与（B）相同的细胞免疫荧光染色，显示了微管的横向皮质排列［（A）经 Brian Gunning 许可；（B）和（C）经 Kim Findlay 许可）

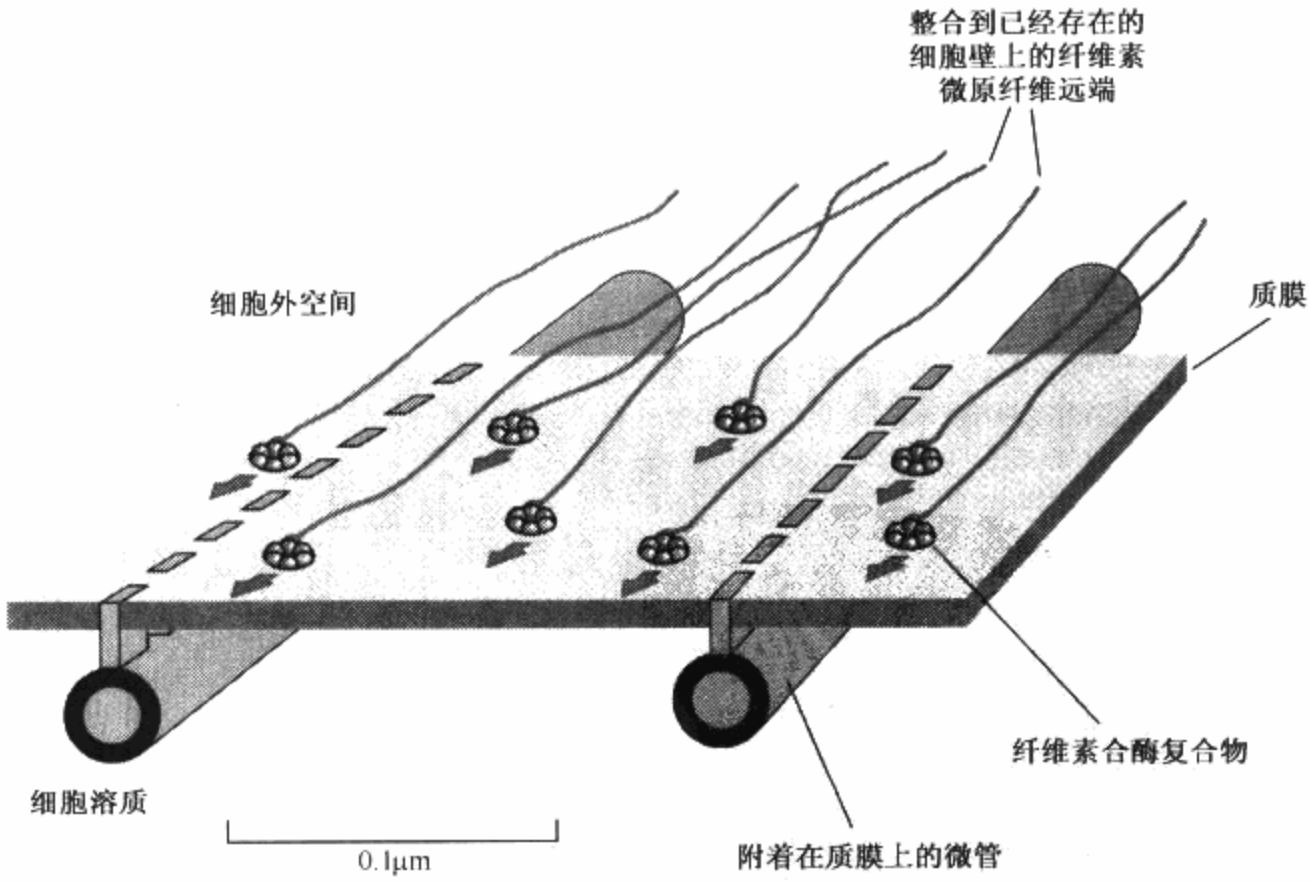


图 19-75　皮质微管的走向如何决定新沉积的纤维素微原纤维的走向的一个模型

大纤维素合酶复合物是跨膜蛋白，不断地在质膜外表面合成纤维素分子。刚性的微原纤维的远端整合进细胞壁的结构中，它的近端延伸部分推动合酶复合物沿着质膜平面移动。由于质膜下皮质排列的微管附着在质膜上，就把合酶复合物限制在特定的膜通道内，因而这些微管的走向（如果存在的话）决定了新生微原纤维的方向

小结

植物细胞被一层坚硬的以细胞壁形式出现的胞外基质包围着，而细胞壁赋予植物发育过程许多的特征。细胞壁是由纤维素微原纤维和交联聚糖构成的网状结构植入高度交联的果胶多聚糖中所组成的。在次生细胞壁中，木质素也能沉积。皮质内微管的走向决定了新沉积的纤维素微原纤维的走向，而微原纤维的走向反过来又决定了细胞扩展的走向，因此，最终决定了植株的整体形态。

参考文献

一般文献

Ayad S, Boot-Handford R, Humphries M et al. (1998) Extracellular Matrix Factsbook. London: Academic Press.

Beckerle M (ed) (2002) Cell Adhesion. Oxford: Oxford University Press.

Howlett A (ed) (1999) Integrins in Biological Processes. Totowa, NJ: Humana Press.

Kreis T & Vale R (ed) (1999) Guidebook to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins, 2nd edn. Oxford: Oxford University Press.

Cell Junctions

Green KJ & Gaudry CA (2000) Are desmosomes more than tethers for intermediate filaments? *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 1, 208–216.

Jockusch BM, Bubeck P, Giehl K et al. (1995) The molecular architecture of focal adhesions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 11, 379–416.

Madara JL (1998) Regulation of the movement of solutes across tight junctions. *Annu. Rev. Physiol.* 60, 143–159.

Nievers MG, Schaapveld RQ & Sonnenberg A (1999) Biology and function of hemidesmosomes. *Matrix Biol.* 18, 5–17.

Saitou M, Furuse M, Sasaki H, Schulzke JD, Fromm M, Takano H, Noda T & Tsukita S (2000) Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol. Biol. Cell* 11, 4131–4142.

Sastry SK & Burridge K (2000) Focal adhesions: a nexus for intracellular signaling and cytoskeletal dynamics. *Exp. Cell Res.* 261, 25–36.

Simon AM & Goodenough DA (1988) Diverse functions of vertebrate gap junctions. *Trends Cell Biol.* 8, 477–483.

Tsukita S & Furuse M (1999) Occludin and claudins in tight-junction strands: leading or supporting players?, *Trends Cell Biol.* 9, 268–273.

Tsukita S & Furuse M (2000) Pores in the wall: claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores. *J. Cell Biol.* 149, 13–16.

Yap AS, Brieher WM & Gumbiner BM (1977) Molecular and functional analysis of cadherin-based adherens junctions. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 119–146.

Yeager M, Unger VM & Falk MM (1998) Synthesis, assembly and structure of gap junction intercellular channels. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8, 517–524.

Zambryski P & Crawford K (2000) Plasmodesmata: gatekeepers for cell-to-cell transport of developmental signals in plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 393–421.

Cell–cell Adhesion

Crossin KL & Krushel LA (2000) Cellular signaling by neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Dev. Dyn.* 218, 260–279.

Gumbiner BM (1996) Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell* 84, 345–357.

Hynes RO & Zhao Q (2000) The evolution of cell adhesion. *J. Cell Biol.* 150, F89–F96.

Koch AW, Bozic D, Pertz O & Engel J (1999) Homophilic adhesion by cadherins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 9, 275–281.

Salzer JL & Colman DR (1989) Mechanisms of cell adhesion in the nervous system: role of the immunoglobulin gene superfamily. *Dev. Neurosci.* 11, 377–390.

Takeichi M, Nakagawa S, Aono S et al. (2000) Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355, 885–890.

Tepass U, Truong K, Godt D et al. (2000) Cadherins in embryonic and neuronal morphogenesis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 1, 91–100.

Vestweber D & Blanks JE (1999) Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol. Rev.* 79, 181–213.

Vleminckx K & Kemler R (1999) Cadherins and tissue formation: integrating adhesion and signaling. *Bioessays* 21, 211–220.

Yagi T & Takeichi M (2000) Cadherin superfamily genes: functions, genomic organization, and neurologic diversity. *Genes Dev.* 14, 1169–1180.

The Extracellular Matrix of Animals

Bernfield M, Gotte M, Park PW et al. (1999) Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu. Rev. Biochem.* 68, 729–777.

Chiquet-Ehrismann R (1995) Inhibition of cell adhesion by anti-adhesive molecules. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7, 715–719.

Colognato H & Yurchenco PD (2000) Form and function: the laminin family of heterotrimers. *Dev. Dyn.* 18, 213–234.

Debelle L & Tamburro AM (1999) Elastin: molecular description and function. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31, 261–72.

Geiger B, Bershadsky A, Pankov R & Yamada KM (2001) Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 793–805.

Henry MD & Campbell KP (1999) Dystroglycan inside and out. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 602–607.

Huang S & Ingber DE (1999) The structural and mechanical complexity of cell-growth control. *Nature Cell Biol.* 1, E131–E138.

Hutter H, Vogel BE, Plenefisch JD et al. (2000) Conservation and novelty in the evolution of cell adhesion and extracellular matrix genes. *Science* 287, 989–894.

Iozzo RV (1998) Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 609–652.

Leahy DJ (1997) Implications of atomic-resolution structures for cell adhesion. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 363–393.

Prockop DJ & Kivirikko KI (1995) Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annu. Rev. Biochem.* 64, 403–434.

Sanes JR & Lichtman JW (1999) Development of the vertebrate neuromuscular junction. *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 389–442.

Schwarzbauer JE & Sechler JL (1999) Fibronectin fibrillogenesis: a paradigm for extracellular matrix assembly. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 622–627.

Tessier-Lavigne M & Goodman CS (1996) The molecular biology of axon guidance. *Science* 274, 1123–1133.

Toole BP (2000) Hyaluronan is not just a goo! *J. Clin. Invest.* 106, 335–336.

Vu TH & Werb Z (2000) Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev.* 14, 2123–2133.

Integrins

Brown NH, Gregory SL & Martin-Bermudo MD (2000) Integrins as mediators of morphogenesis in Drosophila. *Dev. Biol.* 223, 1–16.

Calderwood DA, Shattil SJ & Ginsberg MH (2000) Integrins and actin filaments: reciprocal regulation of cell adhesion and signaling. *J. Biol.Chem.* 275, 22607–22610.

Giancotti FG & Ruoslahti E (1999) Integrin signaling. *Science* 285, 1028–1032.

Harris ES, McIntyre TM, Prescott SM & Zimmerman GA (2000) The leuko-

cyte integrins. *J. Biol. Chem.* 275, 23409–23412.

Hynes RO (1992) Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69, 11–25.

Hynes RO (1996) Targeted mutations in cell adhesion genes: what have we learned from them? *Dev. Biol.* 180, 402–412.

Parsons JT, Martin KH & Slack JK (2000) Focal adhesion kinase: a regulator of focal adhesion dynamics and cell movement. *Oncogene* 19, 5606–5613.

Plow EF, Haas TA, Zhang L et al. (2000) Ligand binding to integrins. *J. Biol. Chem.* 275, 21785–21788.

The Plant Cell Wall

Carpita NC & McCann M (2000) The Cell Wall. In Biochemistry and Molecular Biology of Plants (Buchanan BB, Gruissem W & Jones RL eds), pp 52–108. Rockville, MD: ASPB.

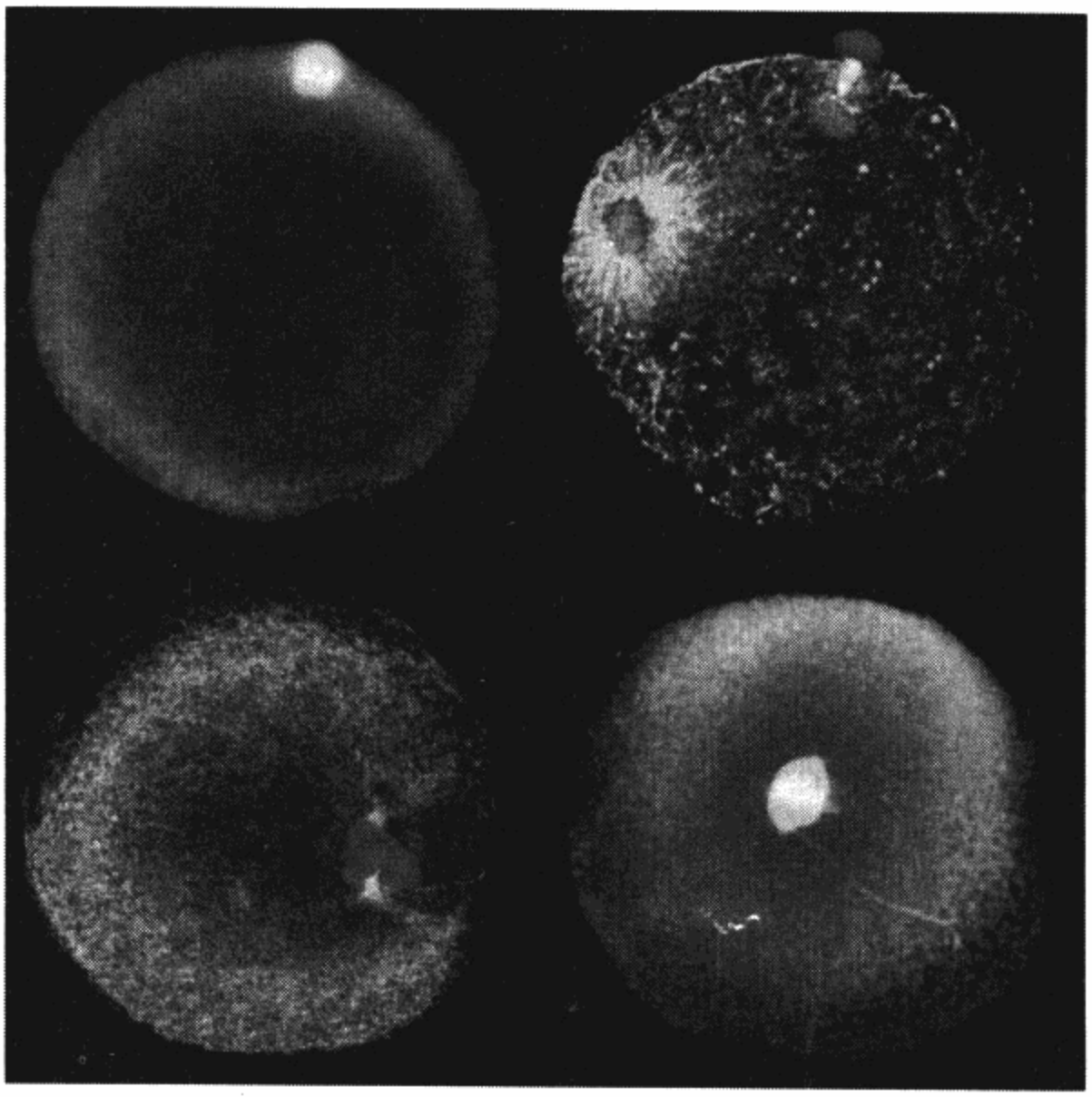
Carpita NC, Campbell M & Tierney M (eds) (2001) Plant cell walls. *Plant Mol. Biol.* 47, 1–340. (special issue)

Cosgrove DJ (2001) Wall structure and wall loosening. A look backwards and forwards. *Plant Physiol.* 125, 131–134.

Dhugga KS (2001) Building the wall: genes and enzyme complexes for polysaccharide synthases. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4, 488–493.

McCann MC & Roberts K (1991) Architecture of the primary cell wall. In The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form (Lloyd CW ed), pp 109–129. London: Academic Press.

Reiter W-D (1998) *Arabidopsis thaliana* as a model system to study synthesis, structure and function of the plant cell wall. *Plant Physiol. Biochem.* 36, 167–176.



人类生殖细胞的体外受精。图中显示了受精的连续四个阶段，开始是一个成熟的但未受精的人卵细胞（左上），接下来是受精后和精子前核的融合体，前核正由左向内部移动（右上），随后精子和卵子的前核相融合（左下），最后来自父母双方的混合染色体排列在第一次有丝分裂的纺缍体上（右下）（摘自 C. Simerly et al.，*Nat. Med.* 1：47-53. © Macmillan Magazines Ltd.）

20　生殖细胞和受精

性别的好处
减数分裂
哺乳动物的原始生殖细胞和性别决定
卵子
精子
受精

性别并不是完全必需的。单细胞生物可以通过简单的有丝分裂进行繁殖，而许多植物可以通过形成多细胞的分枝来生长繁殖。同样地，在动物世界中，独居的多细胞生物水螅可以通过芽殖进行繁殖（图 20-1）。而海葵和海生蠕虫可以分裂成两个“半子代个体”（half-organism），然后每个半子代个体再产生自己的另一半。甚至也存在一些只具有雌性，不需要交配就能繁殖的蜥蜴种类。虽然**无性生殖**简单直接，但无性生殖（asexual reproduction）产生的后代在遗传基因上与亲体基本相同。与此相反，在**有性生殖（sexual reproduction）**中，来自雌性亲体和雄性亲体的基因组被混合在一起，从而产生的后代在遗传基因上不仅彼此不同，而且也不同于它们的雌雄亲体。因为大多数的植物和动物都是采取有性生殖的方式来进行繁殖，所以这种繁殖的方式显然有很大的优势。甚至许多无性生殖的原核生物和其他生物偶尔也会采取有性生殖的方式进行繁殖，从而产生新的基因组合的后代。本章描述了有性生殖的细胞机器。然而，在详细地讨论这种机器如何工作之前，我们将简短地介绍一下：它为什么存在和它能带来什么好处？

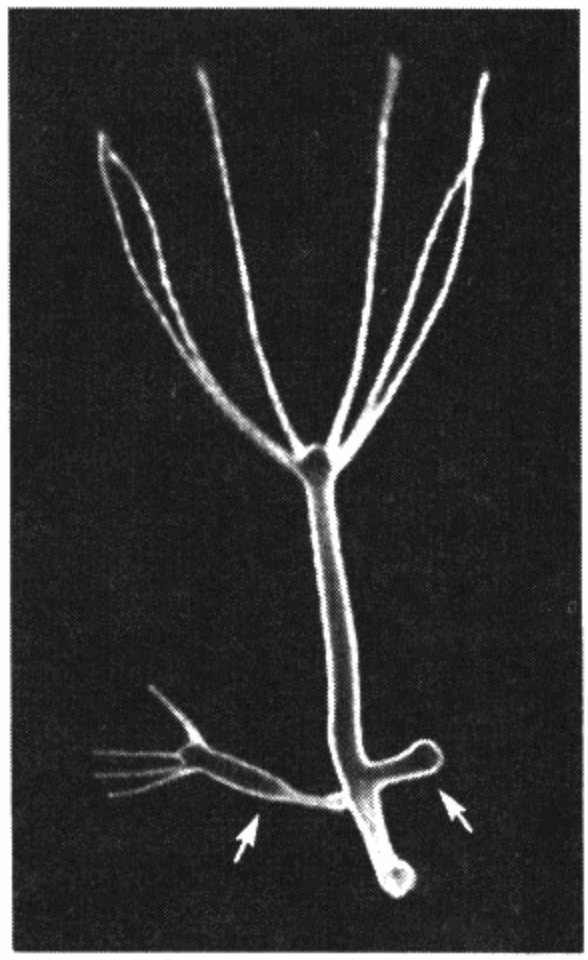


图 20-1　水螅正发芽形成两个新的个体（箭头所示）
产生的后代和它们的父母在遗传上完全相同，但最终将分离而独立生活（经 Amata Hornbruch 许可）

性别的好处

在有性生殖的循环中，**单倍体（haploid）**细胞（每个细胞携带单倍染色体）与**双倍体（diploid）**细胞（每个细胞携带双倍染色体）轮流交替产生（图 20-2）。当两个单倍体细胞进

行融合形成一个双倍体细胞时，单倍体细胞的基因组也混合在一起。接着，形成的双倍体细胞的子代通过减数分裂（meiosis）又产生了新的单倍体细胞。在减数分裂的过程中，双倍染色体组之间通过基因重组（genetic recombination）进行 DNA 的交换，然后以新的基因组合形式被均匀分配形成单倍染色体组。由于每组单倍染色体上携带的基因是前代单倍体细胞的祖先细胞来源的基因与另一个祖先细胞来源的基因的混合，所以每个新产生的单倍体细胞将含有新的基因组合。因此，经过单倍体化、细胞分裂、双倍体化和减数分裂的循环过程，旧的基因组合被打破，新的基因组合产生。

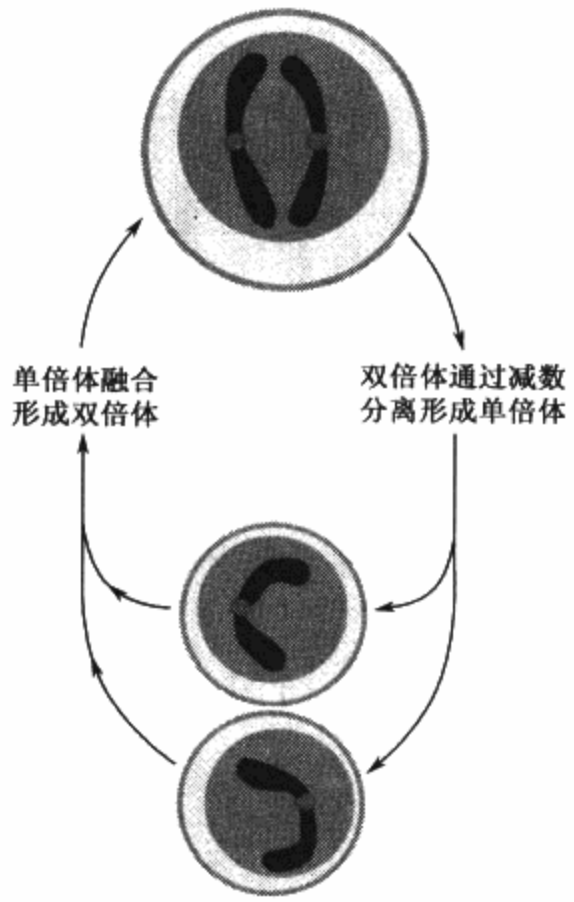


图 20-2　有性生殖的循环

在这个循环中，单倍体细胞与双倍体细胞轮流交替产生

在多细胞的动物和大多数的植物中，双倍期是长期复杂的，而单倍期是短暂简单的

细胞通过有丝分裂进行增殖。绝大多数有性生殖的生物在双倍期进行细胞增殖。但例外的是：一些比较原始的有性生殖的生物，如裂殖酵母，在单倍期进行细胞增殖，一旦形成双倍体细胞就直接进行减数分裂。一个不太极端的例外发生在植物中，细胞在单倍期和双倍期都可以进行有丝分裂。然而，除了一些最原始的植物，如苔藓和蕨类植物，所有植物的单倍期都非常简单而短暂，而双倍期则延伸到长期的发育和分化过程中。实际上，几乎所有多细胞的动物，包括脊椎动物，整个生命周期基本都处于双倍期；单倍体细胞只是短暂地存在，而且根本不进行分裂，专门用于细胞的性融合（图 20-3）。

专门用于性融合的单倍体细胞称为**配子（gamete）**。一般形成两种类型的配子：一个较大的、不能运动的配子称为卵子（egg 或 ovum）；另一个很小的、能动的配子称为精子（sperm 或 spermatozoon）（图 20-4）。随着配子融合进入双倍期，细胞开始增殖分化从而形成一个复杂的多细胞生物。对于大多数动物而言，产生配子的**生殖细胞系（germ line）**和形成身体的

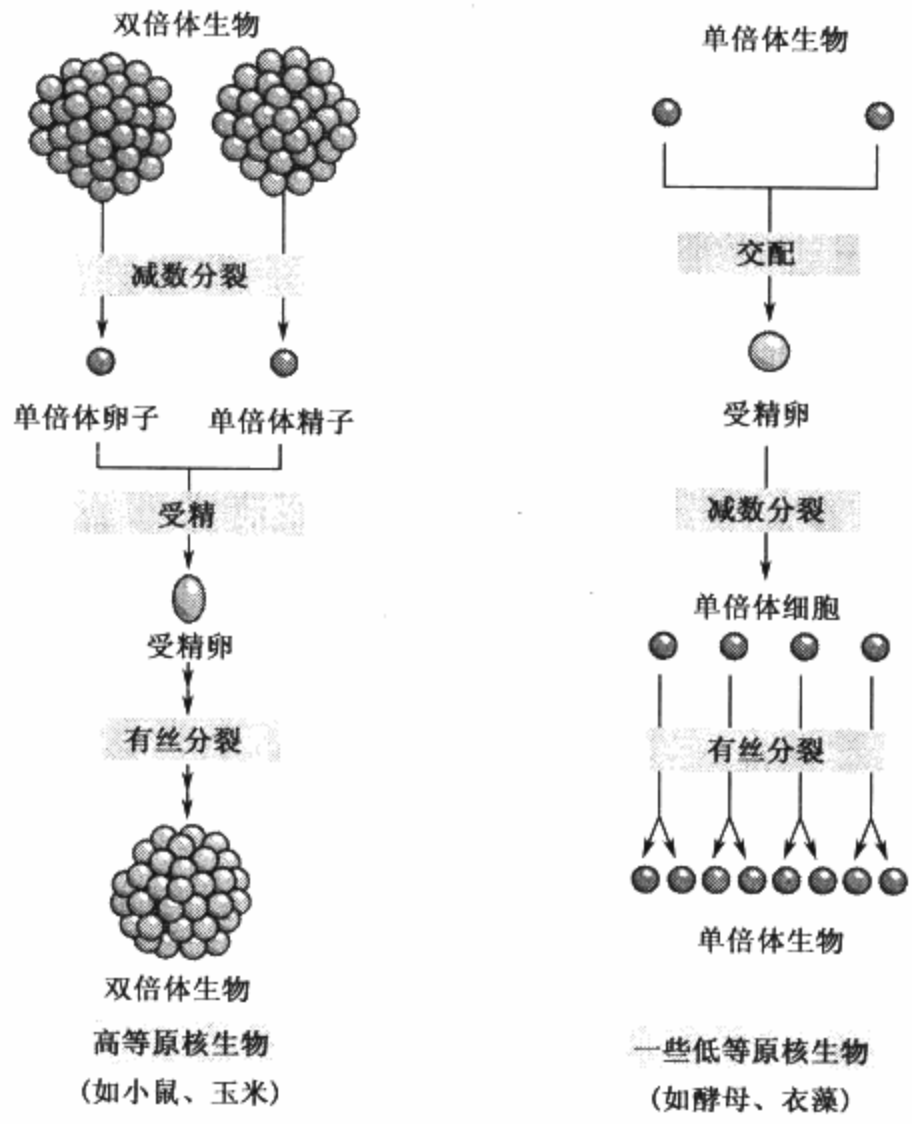


图 20-3　一些低等和高等真核生物生命周期中的单倍体和双倍体细胞

单倍体细胞用红色显示，双倍体细胞用蓝色显示。高等真核生物的细胞通常在双倍体期进行增殖形成多细胞生物；仅仅它们的配子是单倍体，在受精时配子融合形成双倍体受精卵，然后发育成新的个体。相反，一些低等真核生物通常在单倍体期进行增殖；仅仅它们的受精卵是双倍体，而且在交配后存在很短暂

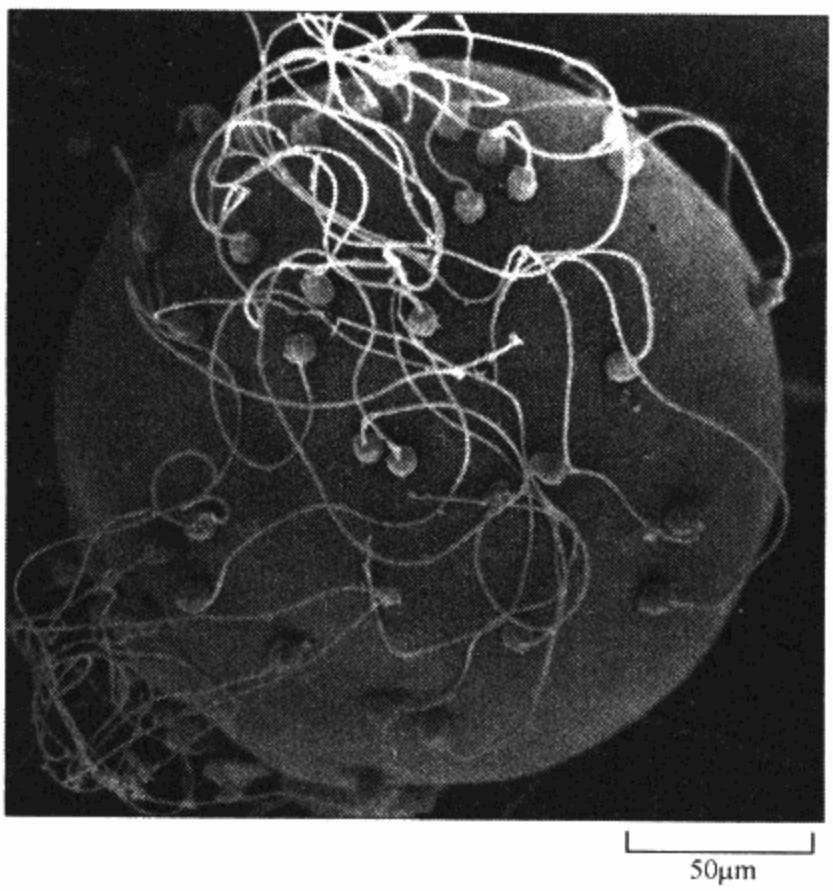


图 20-4　蛤蚌精子结合到卵子表面的扫描电镜图

像我们后面讲到的一样，虽然很多精子结合到卵子表面，但仅有一个精子能使卵子受精（经 David Epel 许可）

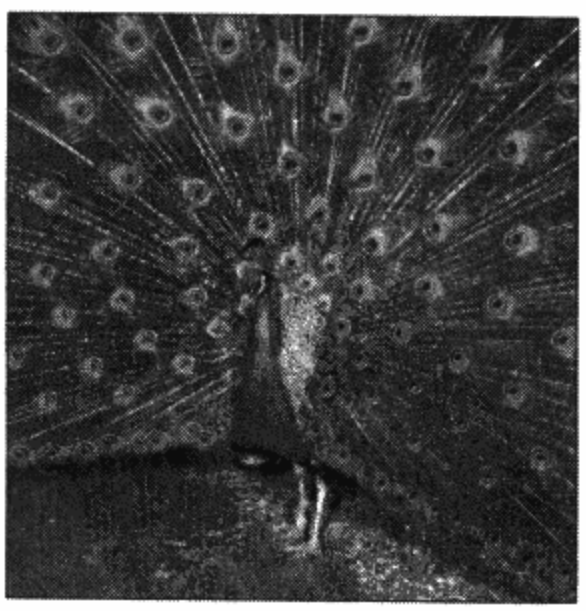


图 20-5　孔雀开屏展示它精巧的尾巴

华丽的羽毛只是为了有性生殖而用来吸引异性的注意（经 Cyril Laubscher 许可）

其他部分、最终不能产生后代的**体细胞系（somatic cell）**之间有着明显的区别。从某种意义上讲，体细胞的存在仅仅是帮助**生殖细胞（germ cell）**生长繁殖。

有性生殖为生活在复杂多变环境里的生物提供了竞争优势

有性生殖的机器是相当精巧的，而且它所需要的资源也是巨大的（图 20-5）。但是，它能带来什么益处？为什么进化上最终选择了它？通过遗传重组，有性生殖产生的后代是无法预测的，而且在遗传基因上也是不同的，其偶然的基因型至少可能代表了更糟或更好的适应环境所做出的变化。然而，为什么有性生殖与无性生殖相比，前者能够为个体带来竞争优势？这个问题一直使种群遗传学家非常地困惑，但一般的解释好像是：有性生殖过程中的基因重组有利于物种在复杂多变的环境中存活下来。如果一个亲体产生了各式各样的基因组合的后代，就有更大的机会遗传下去——至少有一个后代所携带的基因组合具有生存所必需的特征。另外，有性生殖还有利于消除随机积累的有害突变，而把在不同个体中产生的很少的有益突变组合遗传到单一个体中。

不管性别的益处可能是什么，引人注意的是：实际上所有现存的复杂生物都是通过有性生殖而不是无性生殖进化而来的。无性生殖的生物虽然很多，但大部分都还保持着简单原始的特征。

我们现在将转向讨论有性生殖的细胞机制，首先将介绍一下减数分裂的过程，减数分裂使染色体分离，同时使生殖细胞系的双倍体细胞分裂产生单倍体的配子。然后我们将集中讨论哺乳动物的减数分裂过程，如产生配子的生殖细胞系的双倍体细胞和哺乳动物的性别是如何决定的。最终，我们将讨论配子的特性和受精过程——在此过程中，两个配子（卵子和精子）融合形成受精卵，然后发育成新的二倍体生物。

小结

有性生殖在进化上受到偏爱可能是因为随机的基因重组提高了至少一部分后代在复杂多变的环境中生存的机会。在有性生殖的循环中，多倍体细胞与单倍体细胞轮流交替产生：双倍体细胞通过减数分裂形成单倍体细胞，然后在受精过程中，两个单倍体细胞进行融合又形成新的双倍体细胞。在这个过程中，基因组经历了混合重组，所产生的后代继承了新的基因组合。高等植物和动物的大部分生命周期都处于双倍期，仅有一小部分的双倍体细胞（生殖细胞系的）进行减数分裂产生单倍体细胞（配子），而且单倍体细胞只是短暂地存在。

减数分裂

当人们第一次观察到是染色体携带遗传信息时，就认识到配子是单倍体，因此它肯定是某种特殊类型的细胞分裂产生的。在 1883 年，发现蛔虫的受精卵含有 4 条染色体，而蛔虫的卵子和精子分别仅含有两条染色体。因此，遗传的染色体理论解释了一个长期存在但比较矛盾的观点：尽管在体积上卵子和精子有很大的不同，但是母本和父本对后代特征的贡献好像是等同的（图 20-4）。这个发现也暗示着：生殖细胞一定是通过某种特殊类型的核分裂产生的，而此种核分裂能把染色体精确地均分。上述的分裂过程称为**减数分裂（meiosis）**，源自希腊语，意思是“减少”〔有丝分裂（mitosis），是指在普通有丝分裂细胞分裂时的核分裂（见第 18 章），源自希腊语 mitos，意思是“丝”。这个术语是指在核分裂时染色体会凝集成丝状的样子，这个凝集过程在减数分裂和有丝分裂时都要发生〕。事实证明，在减数分裂过程中，

染色体的表现行为比预料的更加复杂。所以，直到 20 世纪 30 年代早期，经过了艰苦的细胞学和遗传学研究，有丝分裂的基本过程最终确立。近年来的遗传学和分子生物学研究已经转向鉴定引起染色体特定行为和介导基因重组过程的特异减数分裂蛋白。

减数分裂中复制的同源染色体配对

典型的有性生殖生物的染色体组是由常染色体（autosome）和性染色体（sex chromosome）组成的，对于特定物种来说，所有个体都含有常染色体，而不同性别的个体含有不同的性染色体。对于任一染色体来说，一个双倍体的细胞核都含有两个同源性比较高的拷贝。对于任一常染色体对来说，一个遗传自父方（父本染色体），另一个遗传自母方（母本染色体）。这一对染色体虽然比较相似，但 DNA 序列不完全相同，称为**同源染色体（homolog）**，在大部分细胞里他们作为独立的染色体对而存在。

通过 DNA 复制，染色体进行了复制，完成复制的两条染色单体沿长轴紧密地连接在一起，称为**姐妹染色单体（sister chromatid）**。在有丝分裂过程中，姐妹染色单体依赖动粒（kinetochore）和指向两极的附着微管排列在纺锤体上（与着丝粒相关的蛋白质复合物，见第 18 章）。在有丝分裂后期，姐妹染色单体彼此分离，形成子代染色体。用此种方式，有丝分裂产生的子代细胞继承了父母双方全部携带的染色体的拷贝，因此在遗传组成上与它的亲体完全一样。

相反，双倍体细胞通过减数分裂产生的单倍体配子只含有初始染色体数目的一半。单倍体配子肯定只含有任一染色体的一条染色单体而不是一对同源染色体，它因此继承了任一父方染色体的一个拷贝或任一母方染色体的一个拷贝，而不是两者都有。这对细胞分离的机制做出了额外的要求。满足这种额外要求的细胞分离机制需要同源染色体之间相互识别，从而使它们能够沿着长轴并列地连在一起，然后排列在纺锤体的赤道板上。来自父母双方的同源染色体如何进行识别，目前尚不清楚。在许多生物中，似乎很多分布在染色体上的位点之间进行互补 DNA 碱基配对，从而介导了**配对（pair）**过程的发生。

在同源染色体配对之前，像在有丝分裂中一样，双倍体细胞的每条染色体都要进行复制，产生两条姐妹染色单体。DNA 的复制完

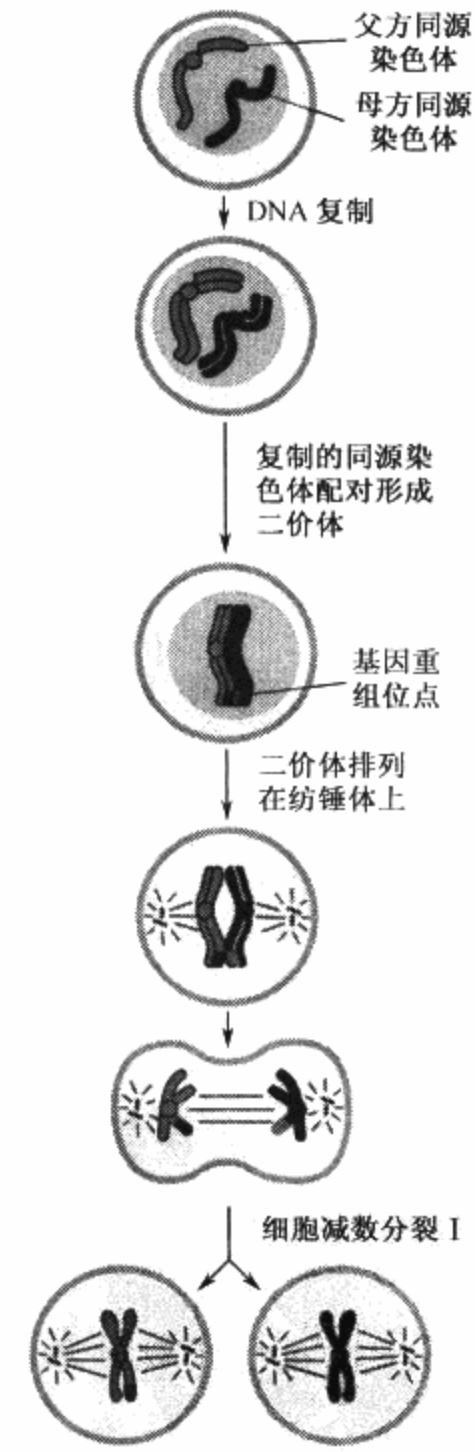


图 20-6　第一次细胞减数分裂中发生的事件

为了简单清楚，图中只显示了一对同源染色体。每条染色体已经完成复制，在和它同源的染色体配对之前，两条紧密相连的姐妹染色单体组成一条染色体，因此同源染色体配对后形成含有 4 条染色单体的二价体结构。同源染色体一条用红色显示，一条用黑色显示。减数分裂期同源染色体的配对导致了它们之间基因重组，后面将详细讲到

成之后，减数分裂的独有特征才显现出来。染色单体对与同源染色单体对进行配对形成含有4个染色单体的**二价染色体**（**bivalent**）结构。配对发生在可以持续数天甚至数年的减数分裂前期。下面我们将会看到，同源染色体配对允许进行基因重组，即来自母方的染色单体上某些片段与来自父方的染色单体上相应片段进行交换。在随后的减数分裂中期，所有的二价染色体都排列在纺锤体上，在后期，同源染色体对（每个含有两个姐妹染色单体）相互分离并向两极移动，接着，细胞进行分裂（图20-6）。然而，为了产生单倍体的配子，需要再进行一次细胞分裂。

配子是经过两次细胞减数分裂产生的

上述的细胞减数分裂，这里是指减数分裂期Ⅰ（**division Ⅰ of meiosis**），并不能产生含有单倍DNA量的细胞。因为姐妹染色单体是作为一个独立单位存在，这样分裂产生的子代细胞含有同源染色体对中其中一条染色体的两个拷贝。这两个拷贝的染色单体除了发生遗传重组的地方之外基本上是相同的。因此产生的子代细胞含有单倍的染色体量，但含有双倍的DNA量。它们不同于正常的二倍体细胞表现在以下两个方面：首先，这两个拷贝的染色单体是来源于亲代细胞携带的同源染色体对中其中的一条染色体；其次，这两个拷贝的染色单体是紧密连接的姐妹染色单体（图20-6）。

接着只需要通过第二次细胞分裂，即不进行DNA复制的减数分裂期Ⅱ（**division Ⅱ of meiosis**），就能产生单倍体的配子。复制的染色体排列在重新形成的纺锤体上，然后姐妹染色单体彼此分离，从而产生含有单倍DNA量的细胞。因此，减数分裂期间只进行一次DNA复制，但进行了两次细胞分裂。从而，进入减数分裂期的每个细胞都产生了4个单倍体细胞。减数分裂和有丝分裂的相互比较（图20-7）。

在减数分裂过程中，偶尔也会出现染色体不能正常地分配到四个单倍体细胞中的现象，这种现象称为不分离（nondisjunction）。在上述的异常减数分裂形成的单倍体配子中，有一些可能少了一条染色体，而另一些可能多了一条染色体。异常配子形成的异常胚胎，大部分将死掉，然而有一些会存活下来，如人类的Down氏综合征（Down syndrome）就是在减数分裂期Ⅰ或Ⅱ染色体不分离导致21号染色体多了一个拷贝所引起的。减数分裂过程中的染色体分离错误大多数发生于雌性，而且错误率会随着雌性年龄的增长而提高。人类的卵母细胞染色体错误分离的频率相当高（大约占减数分裂的10%），这可能是在怀孕早期流产率高的一个原因。

同源非姐妹染色单体之间的交换促进了基因的重排

除非是同卵双生个体，其遗传性状基本相同，要想得到遗传上完全相同的个体几乎是不可能的。这是因为，在配子受精融合之前的长期过程中，两类随机的基因重排发生在减数分裂期。

第一类基因重排发生在减数分裂期Ⅰ，由来自父母双方的同源染色体在子代细胞中随机分配所致，这样形成的每个配子所获得的染色体是不同的父方和母方染色体的混合。如果只发生上述的基因重排，理论上讲，一个亲代细胞将产生2^n个不同基因排列的配子，这里n是单倍体染色体的数目［图20-8（A）］。例如，人类至少能产生$2^{23}=8.4\times10^6$个不同基因排列的配子。但由于在减数分裂期还会发生第二类的基因重排，称为**染色体互换**（**chromosomal crossing-over**），所以形成配子的实际数目要远大于上述数字。染色体互换发生在持续时间较长的减数分裂前期Ⅰ，在这一时期，一部分同源染色体上的片段进行了互换。在减数分裂期Ⅰ，

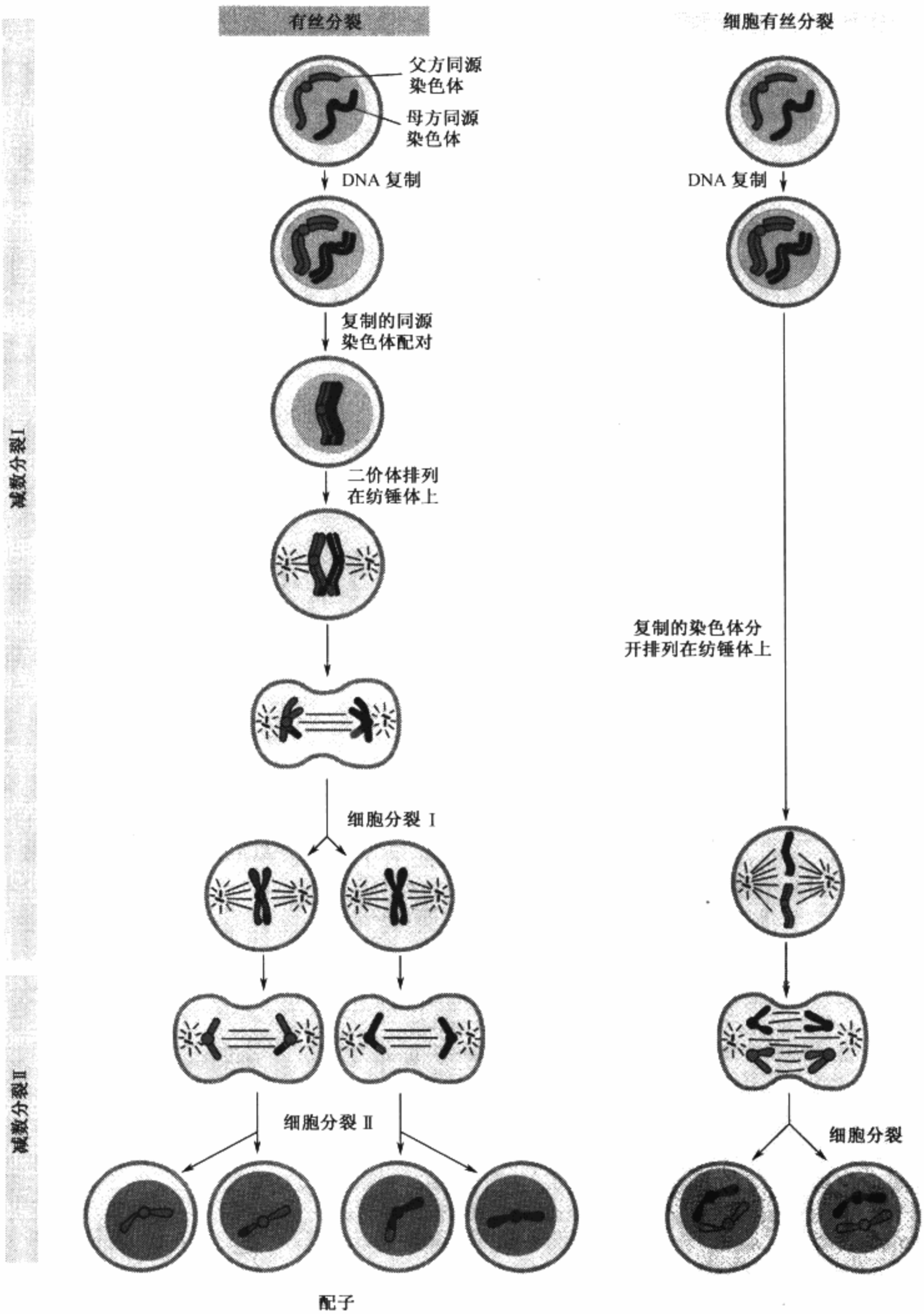


图 20-7　细胞减速分裂与有丝分裂的比较

像在以前的图中一样，只显示了一对同源染色体。在减数分裂中，DNA 复制后，需要进行两次细胞核（和细胞）分裂以产生单倍体配子。因此，双倍体细胞通过减数分裂产生 4 个遗传各异的单倍体细胞，而其通过有丝分裂产生两个遗传相同的双倍体细胞

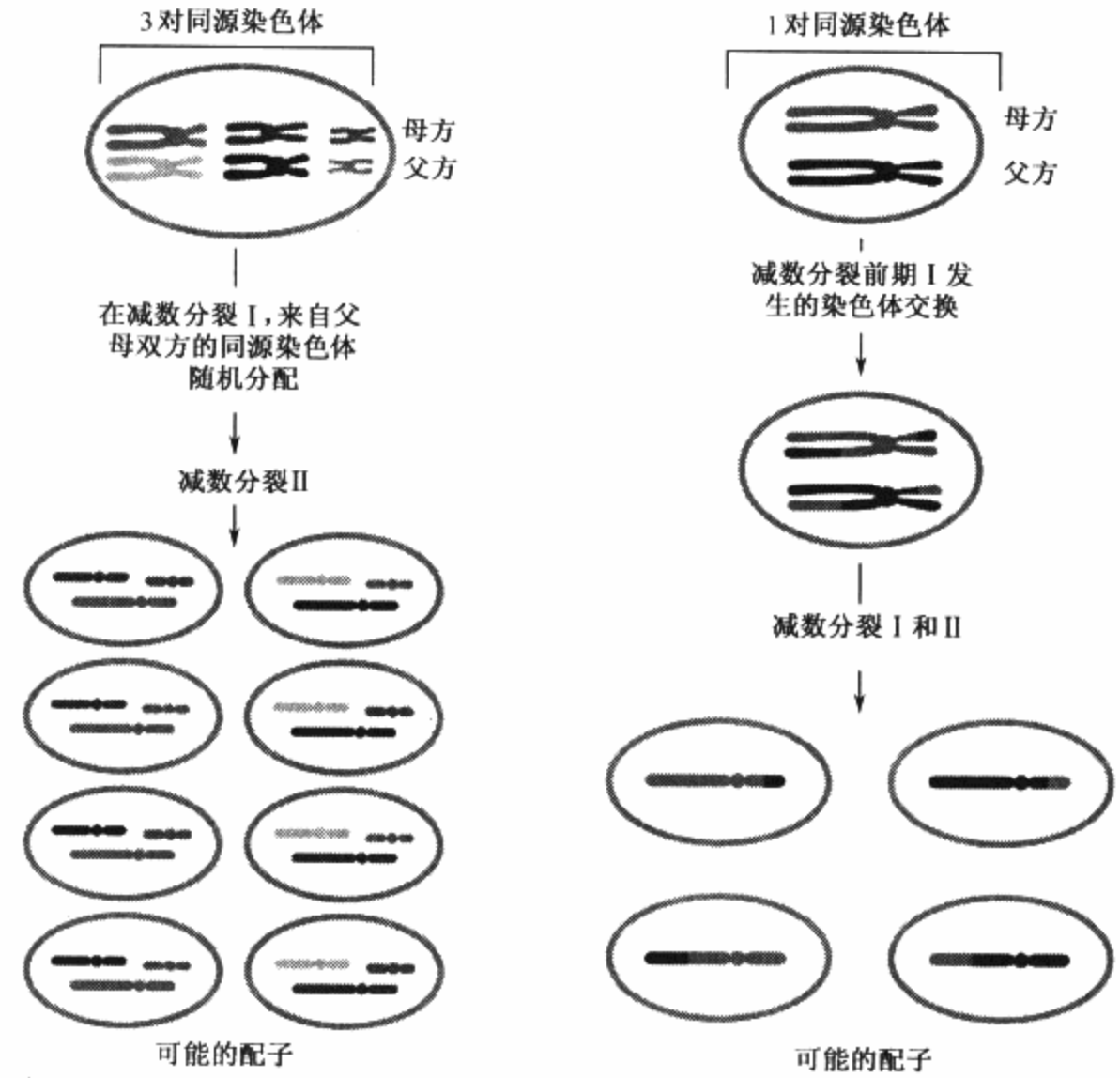


图 20-8　减数分裂形成配子时发生的两类基因重排

（A）在第一次减数分裂期，如果某种生物带有 n 条染色体，来自父母双方的同源染色体随机分配将产生 2^n 个不同的单倍体配子。图中 $n=3$，因此产生 8 个可能的不同配子。（B）在减数分裂前期Ⅰ发生的交换使同源染色体之间进行了片段交换，因此重排了个体的基因。由于在两条同源染色体的 DNA 序列之间总是存在很多小的差别，这两种重排就提高了进行有性生殖的生物的基因差异性

人类的每对同源染色体平均进行二三次的片段互换。这样的互换打乱了配子中每条染色体的基因排列方式，如图 20-8（B）所示。

在进行染色体互换时，母方染色单体和同源的父方染色单体的 DNA 双螺旋都被破坏，因此互换发生在两个非姐妹染色单体之间，这一过程称为**基因重组（genetic recombination）**。第 5 章详细地讨论了基因重组的分子机制。在前期Ⅰ的后期，处于二价体状态的染色体高度凝集，这时可以在电镜下观察到正在进行互换的染色体。在这个时期，姐妹染色单体沿着长轴并列地紧密连接在一起，能够清楚看到：处于二价体状态的同源染色体对（母方和父方）在某些点上紧密相连。每一个连接点称为**交叉（chiasma，复数 chiasmata）**，对应于两个非姐妹染色体之间的交叉互换（图 20-9）。在二价体中，一条染色体的两条姐妹染色单体中的一条与另一条染色体的两条姐妹染色单体中的一条发生交叉互换，如图 20-10 所示。

在减数分裂期，每对同源染色体上至少存在一个交叉。很多二价体染色体上存在一个以上的交叉，表明多个染色体互换正发生在同源染色体对之间。

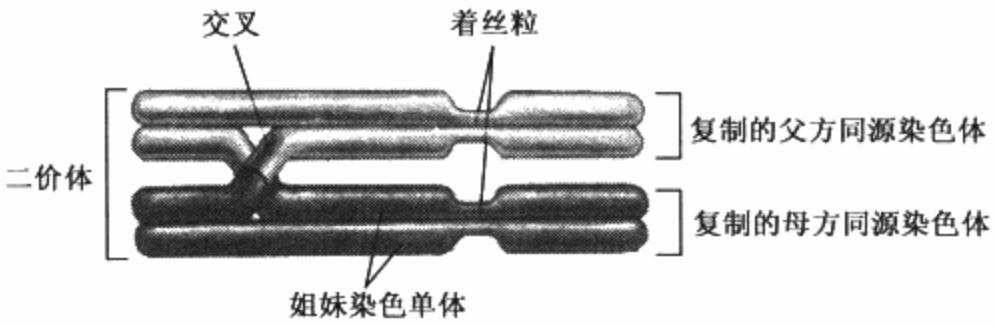


图 20-9　在减数分裂Ⅰ即将进入中期时配对的同源染色体

在前期早期，发生了一次染色体交换形成了一个交叉。注意，4 个染色单体排列成两对独立的姐妹染色单体。像在有丝分裂中一样，每对姐妹染色单体除了在着丝粒之外，还沿着长轴被粘连蛋白紧密连接在一起。4 条染色单体以二价体的形式作为一个单位。交叉和紧密附着的姐妹染色单体一起把复制的同源染色体连在一起

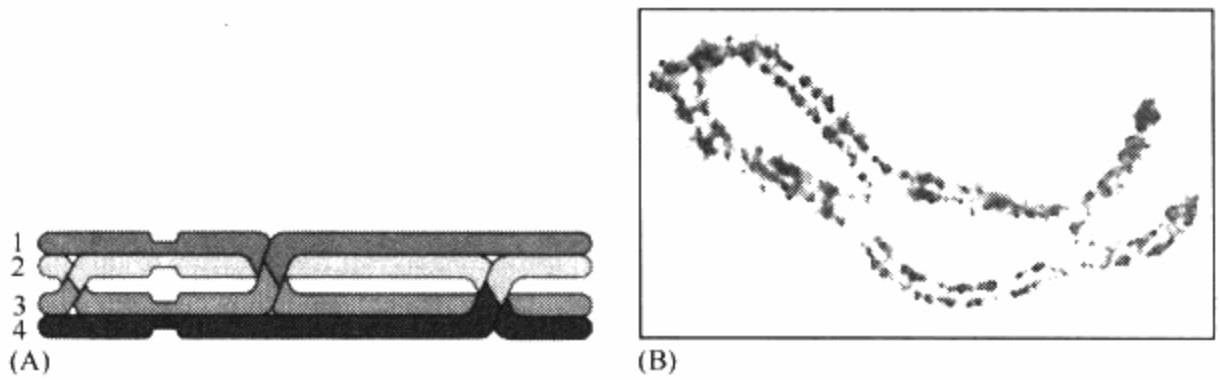


图 20-10　由分开的染色体交换形成三个交叉的二价体

（A）在这个示意图中，染色单体 1 与染色单体 3 进行交换，染色单体 2 与染色单体 3 和 4 都进行了交换。注意，同一条染色体的两条姐妹染色单体之间不会发生交换。（B）带有 3 个交叉的蝗虫二价体染色体的光学显微照片［（B）经 Bernard John 许可］

交叉在减数分裂期染色体分离时有着重要的作用

对于大部分生物来说，染色体互换除了可以重排基因外，在同源染色体对被正确地分配到子代细胞核的过程中也扮演着至关重要的角色。这是因为：在后期Ⅰ纺锤体分离之前，染色体互换产生的交叉对于维持来自父母双方的同源染色体对不分离来说起着重要作用（图 20-9）。在后期Ⅰ之前，纺锤体的两极相互牵拉着同源染色体对，正是其上的交叉抵抗着两极的牵拉。在染色体互换频率较低的突变体中，有一些同源染色体对不存在交叉。没有交叉的染色体对不能正常地分离，这样产生的很多配子含有过多或过少的染色体。

同源染色体对在交叉部位连接在一起仅仅是因为姐妹染色单体的臂沿着长轴被粘连蛋白（cohesin）（详见第 18 章，如图 20-9 所示）黏合在一起。例如，如果果蝇（*Drosophila*）的减数分裂特异粘连蛋白功能受损，姐妹染色单体在中期Ⅰ之前就过早地进行分离，结果导致同源染色体对不能正常分离。

如图 20-11 所示，一进入后期Ⅰ，维持姐妹染色单体臂连接在一起的粘连蛋白就被降解，染色单体臂之间突然松开，允许同源染色体对彼此分离并移向纺锤体的两极。通过位于着丝粒处的减数分裂特异粘连蛋白的作用，同源染色体的两条姐妹染色单体之间仍然保持着连接；在减数分裂期Ⅱ的后期（后期Ⅱ），这些粘连蛋白才被降解，此时姐妹染色单体才能彼此分离。

像在有丝分裂中一样，在减数分裂期Ⅱ，每条姐妹染色单体的动粒都附着着指向两极的动粒微管，从而使在后期Ⅱ姐妹染色单体被拉向不同的子代细胞。相反，在减数分裂期Ⅰ，两条姐妹染色单体的动粒作为一个功能单位而存在，这是因为附着的动粒微管都指向同一方向，使得当同源染色体对相互分离时，姐妹染色单体还待在一起（图 20-11）。在芽殖酵母中，已经知道一种位于减数分裂期Ⅰ的染色体动粒处的特异粘连蛋白对于上述的表现是必需的。

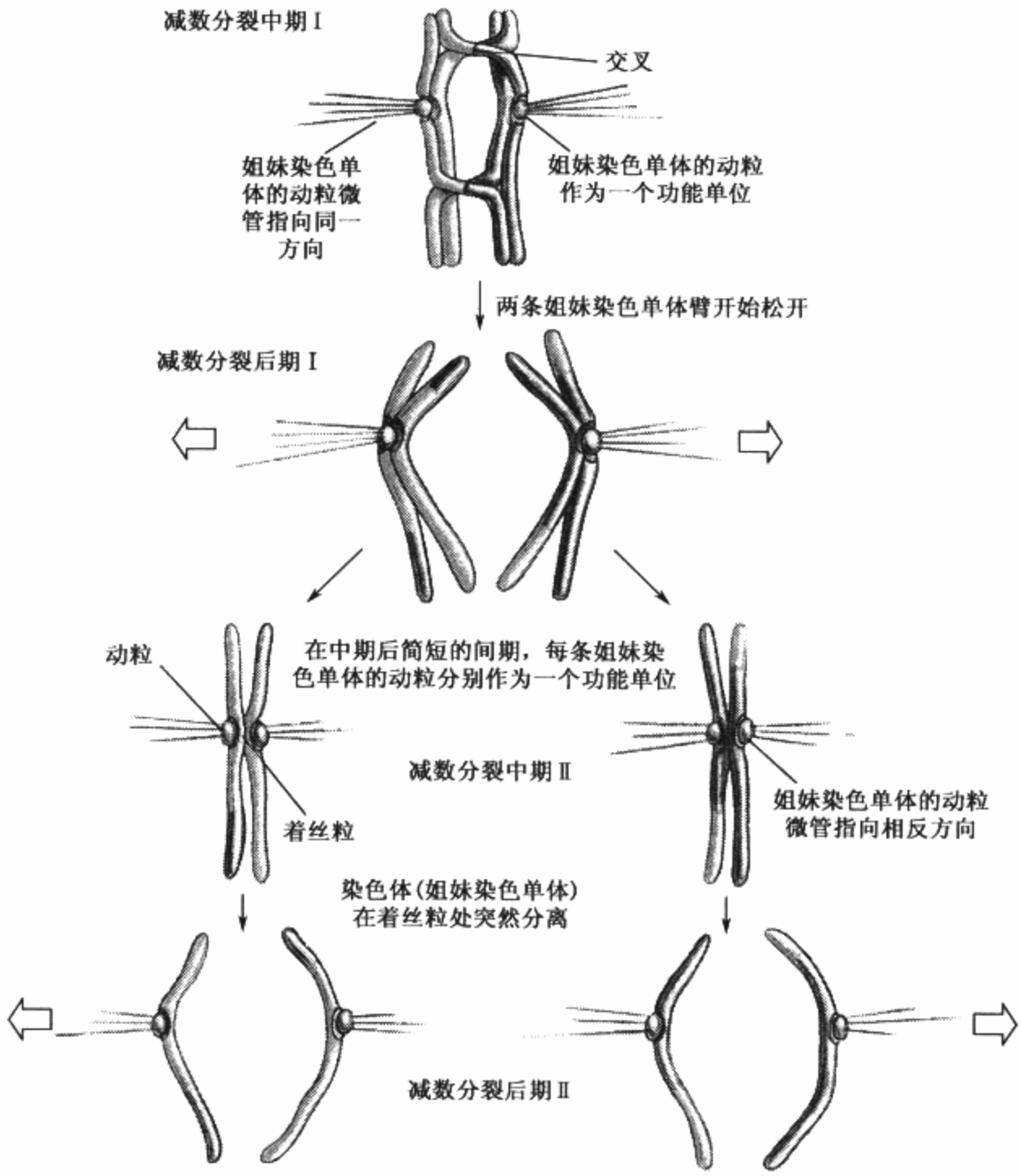


图 20-11　比较染色体排列（在中期）和分离（末期）的机制在减数分裂期Ⅰ和Ⅱ的异同

姐妹染色单体臂的松开允许同源染色体在后期Ⅰ彼此分离，而在染色体着丝粒处松开允许姐妹染色单体在后期Ⅱ相互分离。相比较而言，在有丝分裂末期，染色体臂和着丝粒同时分离（详见第 18 章）

性染色体的配对确保它们也能彼此分离

我们已经知道，在减数分裂期，如果同源染色体对要想精确地分配到子代细胞中，它们就必须进行配对而且至少要形成一个交叉。但**性染色体（sex chromosome）**是如何进行的呢？雌雄哺乳动物有两条 X 染色体，可以进行配对，然后像其他的同源染色体对一样进行分离。但是雄性哺乳动物有一条 X 和一条 Y 染色体，而且这两条染色体是不同源的。然而，如果精

子要想含有一条 X 染色体或一条 Y 染色体，而不是含有两条或什么都不含，在第一次减数分裂中期 X 染色体和 Y 染色体就必须进行配对而且要形成交叉。可能因为在 X 和 Y 染色体的末端有一小部分同源区导致了交叉互换的发生。在前期Ⅰ，X 和 Y 染色体在同源区进行配对并进行交叉互换。基因重组导致的交叉使 X 和 Y 染色体在纺锤体上连接在一起，从而产生了两种类型的精子：含有 Y 染色体的精子，将形成雄性胚胎；含有 X 染色体的精子，将形成雌性胚胎。

已经了解了染色体在减数分裂期的表现行为和分离的一般机制，现在我将转向在持续时间较长的减数分裂期Ⅰ前期发生的基因重组过程和其在配子形成期间在基因重排中起到的重要作用。

联会复合体的形成标志着减数分裂染色体配对达到顶峰

在持续时间较长的减数分裂期Ⅰ前期发生了一系列的复杂事件：同源染色体配对，非姐妹染色单体之间的基因重组，同源染色体对装配形成复杂精巧的结构，称为**联会复合体(synaptonemal complex)**。有些生物在联会复合体装配之前就进行了基因重组，而且这种重组是形成联会复合体所必需的。而另一些生物在不进行基因重组的情况下也能形成联会复合体。然而，对于所有生物来说，当 DNA 处于联会复合体（它的形成有利于交换在染色体上开展进行）状态时，标志着基因重组过程已经完成。

根据联会复合体的联会（synapsis）和联会消失（desynapsis）时细胞形态变化，又可以将前期Ⅰ人为地划分为 5 个阶段：细线期、偶线期、粗线期、双线期、终变期。细线期(leptotene)：为前期Ⅰ开始阶段，配对的同源染色体开始凝集。**偶线期（zygotene)**：在每一个二价体的两对姐妹染色单体之间开始形成联会复合体。**粗线期（pachytene)**：开始于联会完成之后。这一过程可以持续几天直到**双线期（diplotene）**联会消失开始。在双线期第一次可以在电镜下看到交叉（图 20-12）。

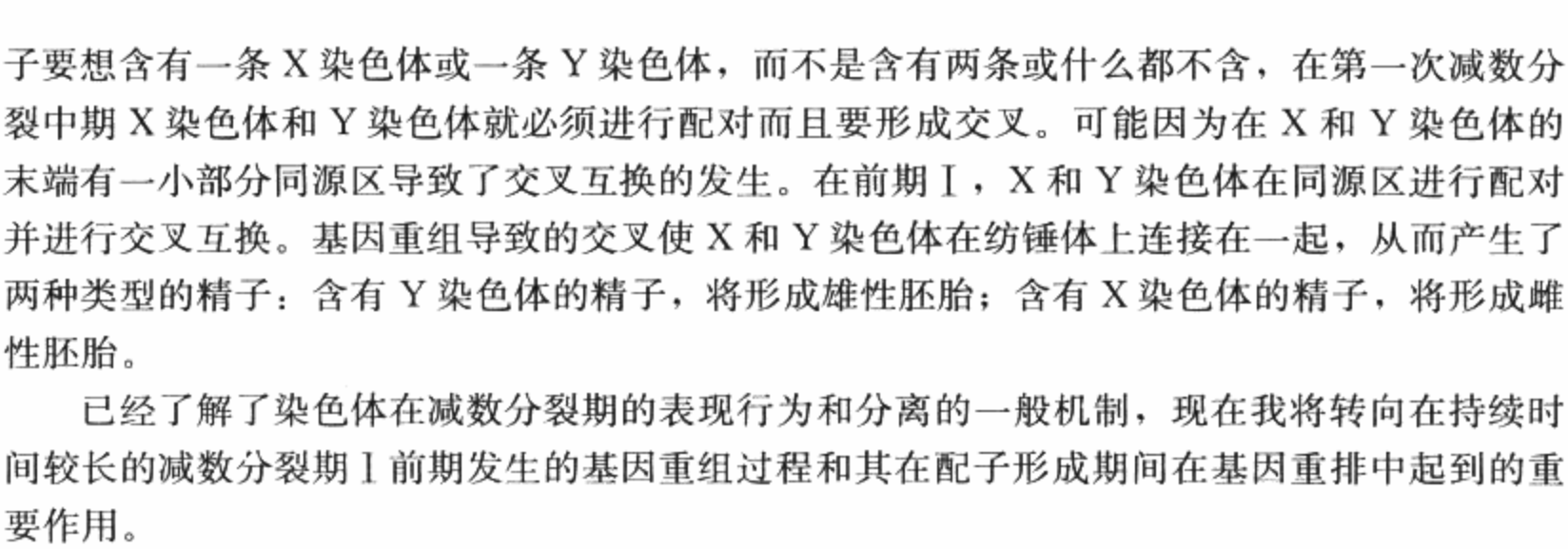


图 20-12　在减数分裂前期Ⅰ的不同时期，染色体进行联会和去联会

（A）只显示了一个二价体。粗线期是完全形成的联会复合物存在的时期。在细线期，两条姐妹染色单体进行凝集，而且它们的染色质环从相同的蛋白质轴向外伸展出去（红色）。随着减数分裂的进行，这一对同源染色体被蛋白质紧密地连接在一起，形成联会复合物的中央区域，这个区域由一个中央成分（蓝色）、横向纤维丝（细黑线）和锚定染色质环的侧成分（红色）组成。在很多雌性动物（但不是哺乳动物）的配子中，随后的双线期持续时间较长，在这段时间内染色体去凝集，而且转录也非常活跃。双线期结束后进入终变期（向减数分裂中期过度的时期），此时染色体重新凝集并且停止转录。在雄性配子中，双线期和终变期时间更短而且更加不明显。（B）百合花减数分裂细胞在粗线期形成的联会复合物的电镜显微照片（B 经 Brian Wells 许可）

联会复合体由长的梯状蛋白核心组成，同源染色体沿着它的两边排列形成长的线状染色体对（图 20-13）。每条同源染色体的两条姐妹染色单体被紧密地包裹在一起，它们的 DNA 从梯状蛋白端延伸出一系列的小环。在中央区域，中央成分通过横向纤维丝与两边的姐妹染色单体上的侧成分紧密相连，从而形成梯子的两边。

已经鉴定了几种位于联会复合体特异结构处的蛋白质组分。缺乏上述特异组分的酵母突变体的获得可以让我们深入地了解联会复合体以及其中一些蛋白质的功能。例如，一种酵母蛋白似乎是使侧成分装配成核，如果此蛋白质丧失功能，侧成分就不能形成。另一种酵母蛋白则有助于形成横向纤维丝：如果此蛋白质缺失，同源染色体进行配对时不能形成紧密联会；然而，如果此蛋白质突变后长度变长，可以使姐妹染色单体的两个侧成分之间的距离变大。

重组结标明了基因重组的位点

在前期Ⅰ，染色体交换可以发生在染色体的任何地方。染色体根本不存在规律分布的重组位点，但存在一些重组的热点：这里 DNA 双螺旋的破坏似乎易于被减数分裂期核酸内切酶 *Spo*11 所诱导。此外，遗传学和细胞学研究都表明：在染色体上进行的第一次交换会降低临近位点发生第二次交换的可能性。这种“干涉”似乎确保了染色体只进行有限的几次交换，甚至小的染色体也至少能进行一次交换，因为这样的交换是同源染色体彼此正常分离所必需的。虽然干涉的分子机制还不清楚，一般认为是联会复合体介导了干涉过程。

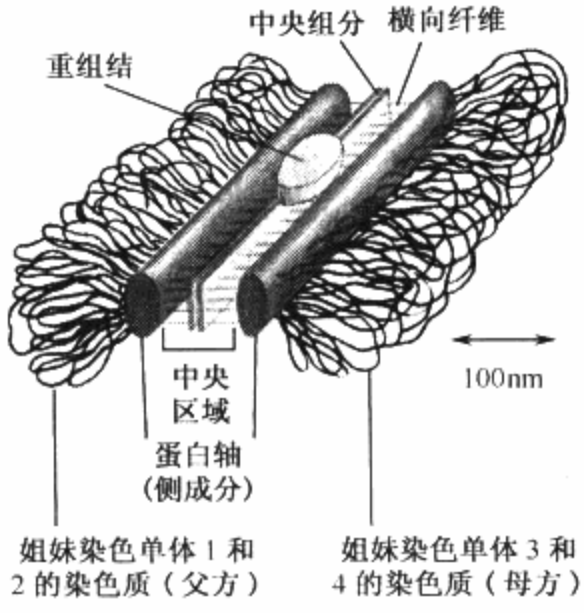


图 20-13　一个成熟的联会复合物

仅仅显示了长梯状复合物的一小部分。一个相似的联会复合物存在于不同的生物中

有一些有力的间接证据表明：在减数分裂期，**重组结（recombination nodule）**促进了基因重组的进行。坐落在联会复合体的间隙里有一些非常大的蛋白质复合物，像篮球一样放在同源染色体之间形成的梯子上（图 20-13）。这些重组结都含有 Rad51 蛋白，即真核的 RecA 蛋白，RecA蛋白介导了大肠杆菌的基因重组（详见第 5 章）。重组结代表了多酶“重组机器”的作用位点，多酶“重组机器”横过 100nm 宽的联会复合体，与同源染色体上的局部 DNA 发生相互作用。

这儿存在两类主要的重组结：早期重组结（early nodule）存在于粗线期之前，一般认为它标志着重组过程中初始的 DNA 交换位点。后期重组结（late nodule）数量比较少，主要存在于粗线期，一般认为它标志着初始的 DNA 交换位点已经作为稳定的交叉互换。在重组结中，已经鉴定了很多参与基因重组的蛋白质，而且后期重组结与染色体交换在数量和染色体的分布上有很密切的关联。此外，参与错配 DNA 修复（详见第 5 章）的减数分裂特异蛋白也存在于后期重组结中，来帮助重组中间体形成稳定的交叉互换。

下面我们会看到：染色体交换的发生可以让遗传学家画出基因在染色体上的相对位置。这样的遗传图谱对于克隆人类疾病基因是十分重要的。

遗传图谱揭示了易于发生交换的位点

在减数分裂期，人类染色体平均进行二三次染色体交换，每条染色体至少进行一次。因此，如果两个基因在一条染色体上靠得特别近，减数分裂后它们几乎总是一起分离进入同一

个配子中；如果两个基因位于同一条染色体上的两端，减数分裂后它们一起分离的几率不一定比位于不同染色体的几率大。因此，这就能判断是否两个基因（例如，一个是突变后引起先天耳聋的基因，另一个是突变后引起肌肉萎缩的基因）靠近地位于同一条染色体上。如果父方带有两个上述的突变基因，而母方带有两个正常基因，通过检测这两个基因在其后代中共遗传的频率，就可以来推测两个基因在染色体上的位置。如果这两个突变基因位于不同的染色体上，只遗传其中一个基因的概率占现在的 50%，因为在减数分裂期，染色体之间的分离是互不依赖的。如果这两个突变基因在同一条染色体上离得比较远，可以预测到同样的结果，因为在减数分裂期，一次或多次染色体交换可能把它们交换到不同的染色体上。为了判断人类的基因是否在同一条染色体上，如果是，它们之间靠得有多近，人类遗传学家检测了很多基因在一个家族的众多成员中共遗传的频率。用这种方法，他们不仅可以发现特定基因的相邻基因，而且还可以发现相邻基因的相邻基因，从而可以把这种方法应用到整条染色体。用上述方法，人类遗传学家已经鉴定了 24 个连锁群（linkage group），每个连锁群对应于每条人的染色体（22 对常染色体加上两条性染色体）

遗传学家通过上述方法已经勾画了整个人类基因组的详细**遗传图谱（genetic map）**，在这个图谱中，每对相邻基因之间的距离用在它们之间发生重组的几率来表示。遗传距离的标准单位是厘摩（centimorgan，cM），1 厘摩表示在减数分裂期两个基因被染色体交换分开的几率有 1%。一条典型的人染色体的长度超过 100cM，表明了它要进行一次以上的染色体交换。

另一个勾画遗传图谱的方法是检测一些短 DNA 序列（称为 DNA 标记，DNA marker）共遗传的频率，这些短 DNA 序列随着个体的不同而不同——也就是说，它们是多形态的（polymorphic）。与通过追踪个体遗传突变基因的表型来构建遗传图谱相比，用 DNA madker 的方法有两个优点。首先，因为存在很多可以被用来检测的 DNA marker，这样勾画的遗传图谱可以更加详细。其次，这样勾画的遗传图谱可以揭示 DNA marker 之间实际的碱基对距离，从而厘摩代表的遗传距离可以直接与在染色体上实际的物理距离进行比较。

如图 20-14 所示，部分芽殖酵母染色体的遗传距离与物理距离进行了直接的比较。由于人们已经知道，如生物基因组的完整 DNA 序列，所以物理图谱就揭示了 DNA marker 之间实际距离。对应在物理图谱上比较扩展的遗传图谱区代表了重组“热点”区（既在减数分裂期，染色体交换发生频率较高的区域。对应在物理图谱上比较紧缩的遗传图谱区代表了重组“冷点”区）既在减数分裂期，染色体交换发生频率较低的区域。同样地，人类的基因图谱显示了相似的伸展和收缩。对于重组热点区一个可能的解释是：在这个区域的 DNA 双螺旋上，有很多内切核酸酶（spo11）的作用位点，一旦 DNA 双螺旋被破坏就开始进行基因重组（图 5-56）。

连续两次不进行 DNA 复制的细胞分裂结束了减数分裂

前期Ⅰ占用了整个减数分裂期 90%以上的时间，虽然传统上称它为前期，但实际上它更像有丝分裂的 G_2期。在前期Ⅰ，核膜一直保持很完整，直到进入中期Ⅰ，减数分裂纺锤体开始形成才消失。前期Ⅰ完成后，接着连续地进行两次不进行 DNA 复制的细胞分裂。一个细胞通过这两次分裂产生了 4 个子细胞，从而结束了减数分裂（图 20-7）。

与有丝分裂和减数分裂Ⅱ相比，减数分裂Ⅰ要复杂得多，而且持续时间更长。甚至在减数分裂期Ⅰ准备 DNA 复制所花费的时间也要比普通的 S 期长得多，而且根据不同物种和形成的不同配子（图 20-15），细胞可以在前期Ⅰ花费几天、几月甚至几年的时间。

在减数分裂期Ⅰ末，核膜在两个子代细胞核的周围重新形成，开始进入短暂的减数分裂

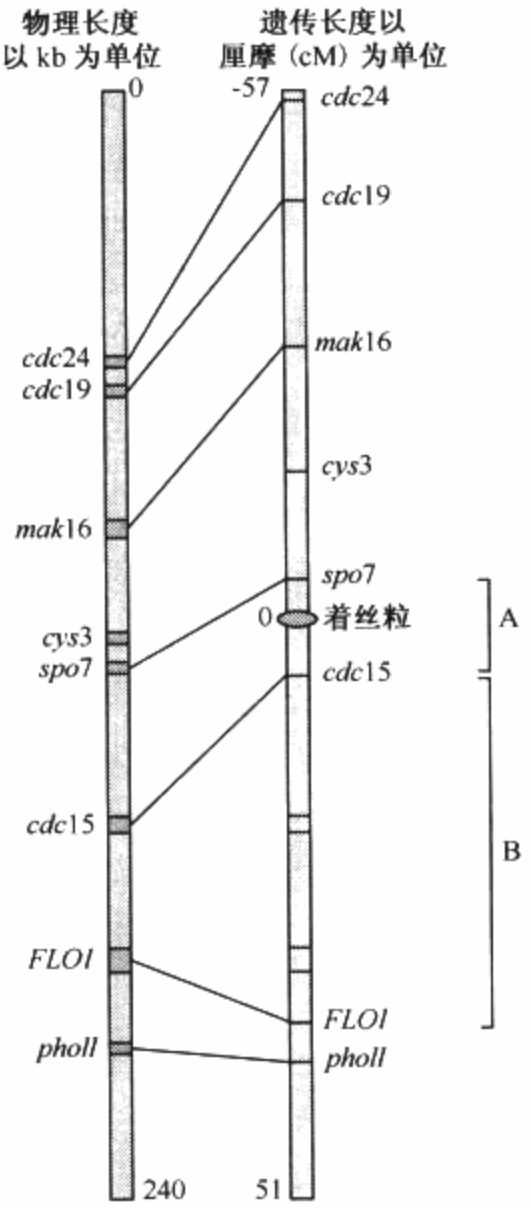


图 20-14　比较芽殖酵母染色体 1 的部分物理图谱和遗传图谱

显示的 DNA marker 是各种不同的基因。A 代表的遗传图谱区比较紧缩，这是由于此区发生染色体交换的频率较低。B 代表的遗传图谱区比较扩展，这是由于此区发生染色体交换的频率较高

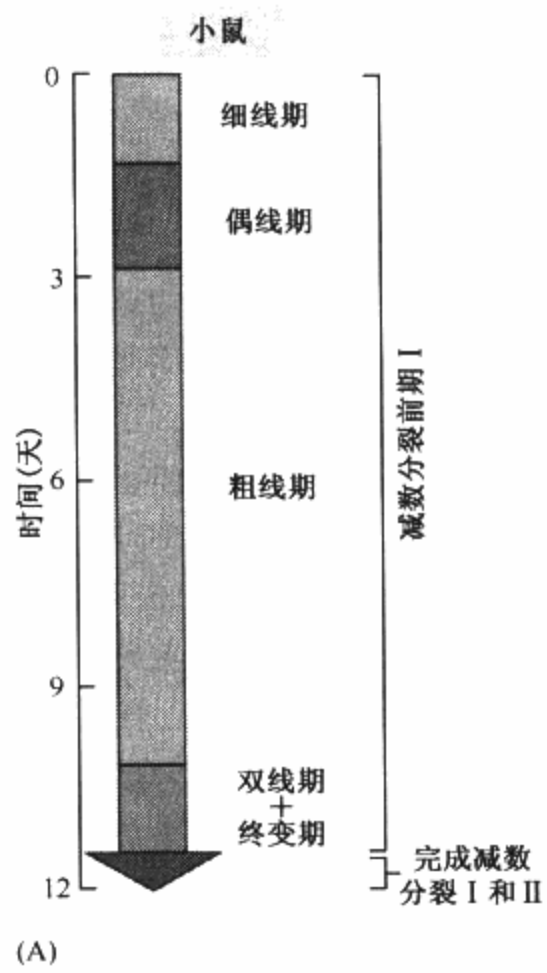


图 20-15　比较减数分裂各个时期所需要的时间

（A）雄性哺乳动物（小鼠）所需要的大体时间。（B）雄性植物（百合花）组织所需要的大体时间。不同物种的同性配子需要不同的时间来完成减数分裂，而同一物种的雄性和雌性配子（精子和卵子）所需要的时间也不相同。例如，人类男性完成减数分裂需要 24 天，而小鼠只需要 12 天。然而，对于所有物种来说，减数分裂前期 I 总是比减数分裂其他时期的总和还要长的多

间期Ⅱ。在这段时间里，染色体可能有点去凝集，但通常会马上重新凝集在一起，开始进入前期Ⅱ（因为在间期Ⅱ没有 DNA 的合成，所以有些生物的染色体似乎直接从一次分裂期进入下一次分裂期）。前期Ⅱ持续时间很短，随着形成新的纺锤体，核膜破裂，接着连续进入中期Ⅱ、后期Ⅱ和末期Ⅱ。在末期Ⅱ，核膜在 4 个单倍体细胞核的周围重新形成，然后开始细胞质分裂，就完成了减数分裂（图 20-7）。

像在有丝分裂中一样，在中期Ⅱ，每对姐妹染色单体都附着一套动粒微管，这两套动粒微管指向纺锤体的两极（图 20-11）。然而，处于有丝分裂期的姐妹染色单体不仅在着丝粒上而且沿着长轴被黏合在一起，一旦进入有丝分裂后期，这两类黏合都被破坏。相反，处于减数分裂期的姐妹染色单体的分离分成了两步——在后期Ⅰ，它们的臂首先进行分离，但它们的着丝粒还保持着黏合，直到进入后期Ⅱ才相互分离（图 20-7 和图 20-11）。

不论是植物还是动物，是雄性还是雌性，减数分裂的原理都是相同的。但只进行减数分裂还不能完全形成配子，配子的形成还需要其他的物种特异的过程，形成精子和卵子的方式就有很大的不同。接着我们将集中讨论哺乳动物的配子形成过程。下面我们将看到：减数分裂结束后，哺乳动物的卵子已经完全成熟，而此时的精子才刚刚开始分化。然而，在讨论这些配子之前，我们应该思考一下：在哺乳动物的胚胎中，某些细胞是如何发育成生殖细胞的，根据个体的性别，这些生殖细胞又是如何发育成精子或卵子的。

小结

卵子和精子的形成都是以相似的方式开始减数分裂的。在减数分裂期，一个双倍体细胞在进行一次 DNA 复制后，连续进行两次细胞分裂，从而产生了四个单倍体细胞。减数分裂期主要处于减数分裂前期Ⅰ，这是因为其占用了整个减数分裂期 90% 以上的时间。在前期Ⅰ，每条染色体是由两条紧密相连的姐妹染色单体所组成。然后，同源染色体进行配对，形成由 4 条染色单体组成的二价染色体。此时，染色体开始进行交换，每次交换形成一个交叉，在中期Ⅰ，交叉可以维持同源染色体对不分离。染色体交换不仅可以在形成配子时重排基因，还允许遗传学家勾画出基因在染色体上相对位置的图谱。同源染色体配对在联会复合体（它的形成有利于交换在染色体上开展进行）形成时达到顶峰。在减数分裂后期Ⅰ，紧密相连的姐妹染色单体臂突然松开，使得每对同源染色体中的一条（每条同源染色体仍然由两条在着丝粒处紧密相连的姐妹染色单体组成）被分配到一个子代细胞核中。第二次细胞分裂不进行 DNA 复制，而且很快就完成；在后期Ⅱ，两条姐妹染色单体彼此分离，每条进入一个单倍体细胞核。

哺乳动物的原始生殖细胞和性别决定

不同的生物在有性生殖时所采取的策略是不一样的。在本章的剩余部分，我们将聚焦在哺乳动物主要采取的策略。

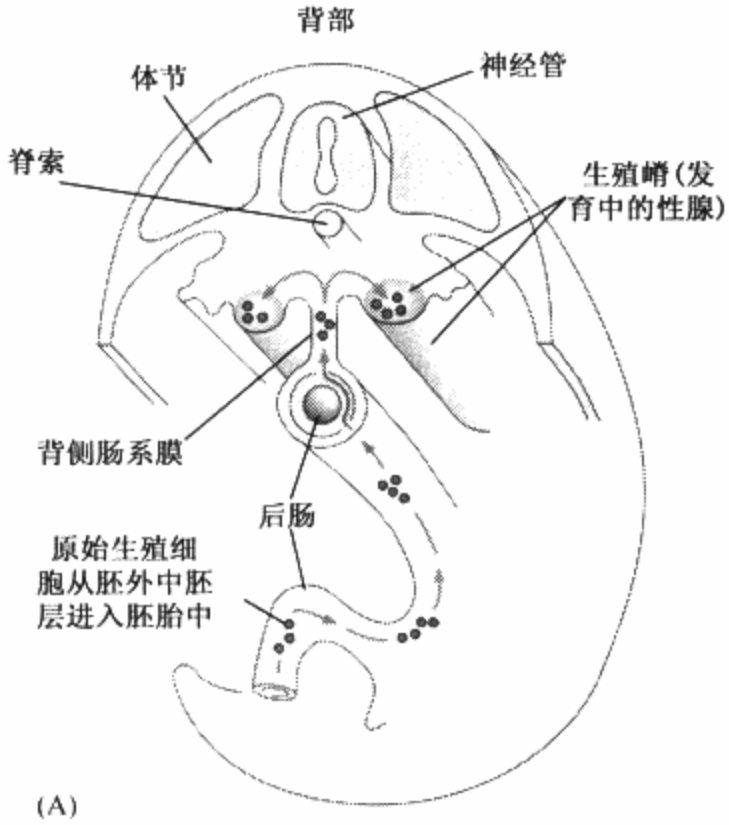
在所有脊椎动物的胚胎中，某些细胞在发育的早期作为配子的祖先细胞被挑选出来。然后这些**原始生殖细胞**（primordial germ cell）进入正在发育的性腺——雌性的性腺将发育成卵巢（ovary）而雄性的性腺将发育成睾丸（testis）。

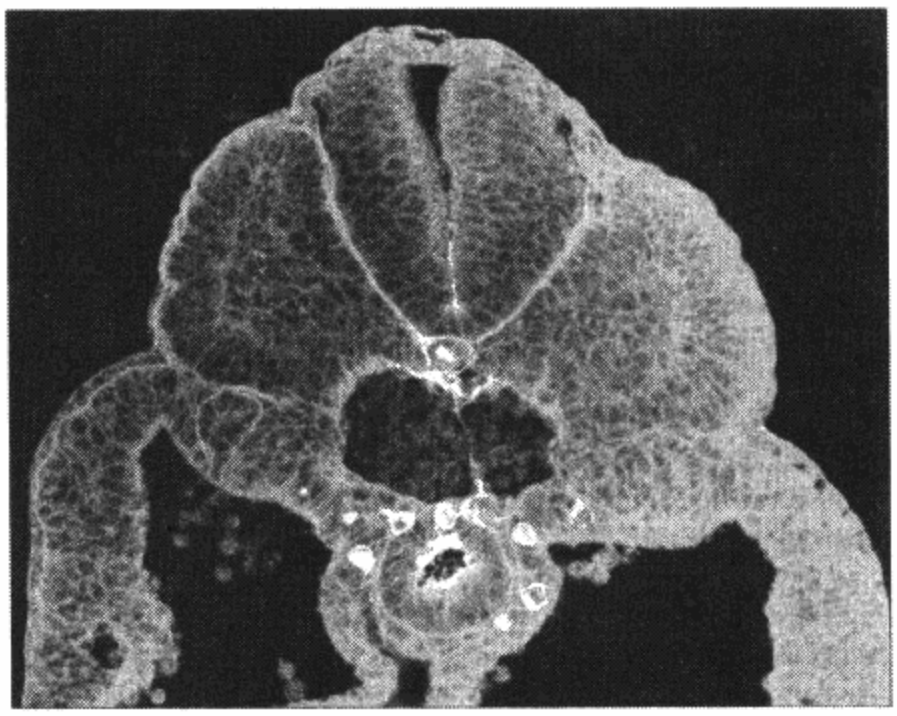
这些原始生殖细胞先进行一段时间的有丝分裂，然后经过减数分裂和分化过程形成成熟的配子——卵子或精子。接着，卵子与精子杂交后进行融合从而起始了胚胎发生。随后，新的原始生殖细胞在胚胎中产生从而开始了新的循环。

在下面的部分，我们将讨论哺乳动物的原始生殖细胞是怎样产生的，哺乳动物的性别是如何决定的，以及性别决定是如何决定让原始生殖细胞发育成精子还是卵子。

原始生殖细胞进入正在发育的性腺

对于大部分动物来说，包括许多脊椎动物在内，未受精的卵子是不对称的：细胞质不同的区域含有不同的 mRNA 和蛋白质分子（详见第 21 章）。卵子受精后，又继续进行分裂形成早期胚胎细胞，而某些遗传了卵子细胞质特定区域的特异分子的胚胎细胞将发育成原始生殖细胞。相比较而言，哺乳动物的卵子更加不对称，由受精卵前几次分裂形成的细胞都是全能的（totipotent）细胞，也就是说：它们能产生构成身体所需的所有类型的细胞，包括生殖细胞。哺乳动物早期胚胎中的一小部分细胞被相邻细胞分泌的信号分子诱导发育成原始生殖细胞。例如，小鼠卵子受精一周后，大约有 50 个位于胚体周围组织的细胞被相邻细胞诱导发育成原始生殖细胞。在接下来的几天中，这些细胞进行增殖，然后被转移到与凹进去的后肠连在一起的胚体中。接着它们穿过后肠进入最终的目的地——正在发育的性腺中（图 20-16）。





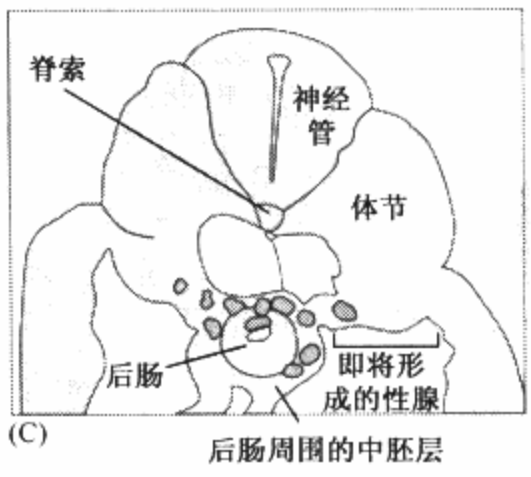


图 20-16　哺乳动物原始生殖细胞的迁移

（A）这个示意图显示了原始生殖细胞通过后肠迁移到两个生殖嵴的最终时期，每个生殖嵴都将发育成性腺——卵巢或睾丸。（B）显微照片显示在小鼠发育早期的胚胎中正在迁移的原始生殖细胞，它们被在胚胎发生时期特异标记这些细胞的单克隆抗体染上了颜色（绿色），而胚胎中剩余的细胞用结合唾液酸（已发现它位于所有细胞的表面）的凝集素标记染色。（C）在（B）显示的显微照片的示意图［（B）经 Robert Anderson and ChrisWylie 许可］

一旦原始生殖细胞迁移穿过胚体，它们就被不同的由周围体细胞分泌到细胞外的蛋白质信号诱导生长、增殖和迁移。

小鼠的原始生殖细胞进入正在发育的性腺，在这段时期称为生殖嵴（genital ridge），它们将继续增殖 2～3 天的时间。此时，它们是发育成卵子还是精子，不是依赖于它们携带的性染色体组成，而是依赖于生殖嵴是发育成卵巢还是睾丸。生殖嵴中的体细胞所携带的性染色体决定了生殖嵴发育成哪类性腺，而 Y 染色体上的一个基因在这个决定中起着非常重要的作用。

Y 染色体上的 *Sry* 基因能让雌性胚胎重新发育成雄性胚胎

亚里士多德认为交配时雄性的体温决定了后代的性别：温度越高，产生雄性后代的几率越高。我们现在知道哺乳动物的性别是由性染色体决定的，而不是由外部环境决定的（虽然有些动物的性别是由外部环境决定的，如鳄鱼和许多鱼类动物）。雌性哺乳动物的所有体细胞都含有两条 X 染色体，而雄性则含有一条 X 和一条 Y 染色体。Y 染色体是性别决定因子。含有一条 Y 染色体的个体不管有多少条 X 染色体，都将发育成雄性个体；然而，不含有 Y 染色体的个体甚至只有一条 X 染色体，都将发育成雌性个体。使卵子受精的精子决定了受精卵的性别：所有卵子携带的一条性染色体都是 X 染色体，而精子携带的一条性染色体是 X 染色体或者是 Y 染色体。

Y 染色体通过诱导生殖嵴中的体细胞发育成睾丸而不是卵巢来影响个体的性别。Y 染色体上具有睾丸决定功能的关键基因称为 *Sry*，意思是“Y 染色体的性别决定区”。引人注意的是，当把这个基因转入带有 XX 基因组的小鼠受精卵中时，虽然缺乏 Y 染色体上其他的所有基因，转基因的小鼠胚胎仍将发育成雄性小鼠（图 20-17）。然而，这样的小鼠不能产生精子，至少部分因为两条 X 染色体的存在抑制了精子发育。

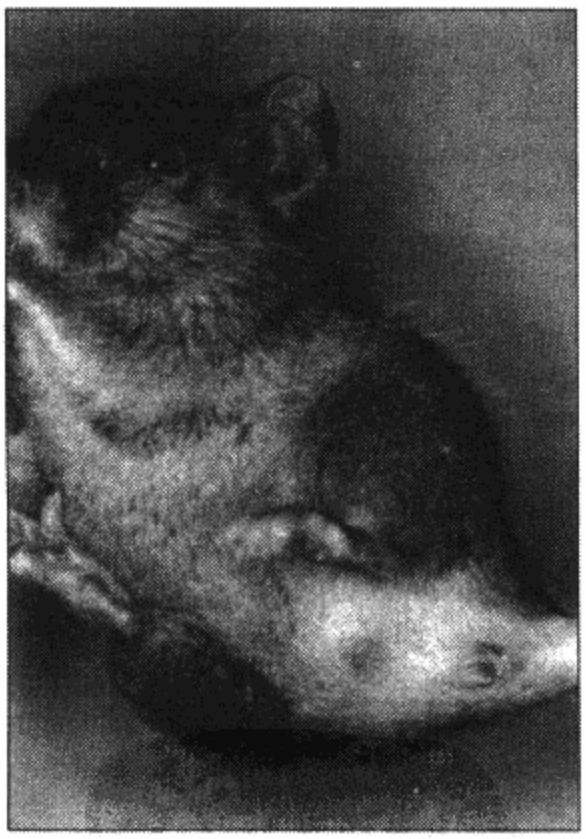


图 20-17　*Sry*-诱导雌性小鼠胚胎重新“编程”而发育成雄性个体

把 *Sry* 基因注射进雌性受精卵（XX），从而使转基因的胚胎发育成雄性个体。转基因小鼠的外部生殖器与正常的雄性小鼠（XY）的相比，没有区别（摘自 P. Koopman *et al.*，*Nature* 351：117～121，1991. copyright：Macmillan Magazines Ltd）

如果 *Sry* 仅仅在正在发育的性腺的体细胞中表达，它将诱导这些细胞分化成**塞尔托利细胞（Sertoli cell）**——它们是在睾丸中发现的主要支撑细胞。塞尔托利细胞至少从 4 个方面来影响生殖嵴中其他的细胞，从而导致性别发育朝着雄性方向进行：

1. 它们刺激新进入的原始生殖细胞朝着产生精子的路径发育。

2. 它们分泌抗缪勒管激素（anti-müllerian hormone），这种激素通过引起缪勒管退化从而抑制雌性生殖道的发育形成（生殖道可以形成输卵管、子宫以及阴道靠上的部分）。

3. 它们刺激位于正在发育的性腺附近的特异体细胞迁移到性腺，从而形成正常地产生精子所必需的重要连接结构组织。

4. 它们帮助发育的性腺中其他体细胞分化成分泌雄性激素睾酮（testosterone）的雷迪氏细胞（Leydig cell），睾酮的作用是诱导产生所有的雄性第二性征。这些性征包括雄性生殖道的结构，如由另一个称为沃尔弗管道系统发育而来的前列腺和精囊。因为沃尔弗管道系统需要睾酮来诱导其生长发育，所以它在雌性发育中逐渐退化掉。睾酮也能使大脑在早期发育中沿着雄性方向发展，因此它在决定雄性的性别特征、方向和行为中扮演着重要角色。例如，在出生时被睾酮处理过的雌性小鼠长大以后会表现出雄性的性别特征。

Sry 编码的基因调控蛋白（Sry）可以激活塞尔托利细胞发育所需的其他基因调控蛋白的转录，包括 *Sry* 所调控的 *Sox9* 蛋白。在缺乏 *Sry* 或者 *Sox9* 时，生殖嵴就发育成卵巢。而支撑细胞发育成卵泡细胞（follicle cell）而不是塞尔托利细胞。其他的体细胞发育成卵泡膜细胞（theca cell）而不是雷迪氏细胞，而且在青春期就开始分泌雌性性激素——雌激素（estrogen）而不是睾酮。因此，原始生殖细胞发育成卵子而不是精子（图 20-18 和图 20-28），最终个体发育成雌性个体。

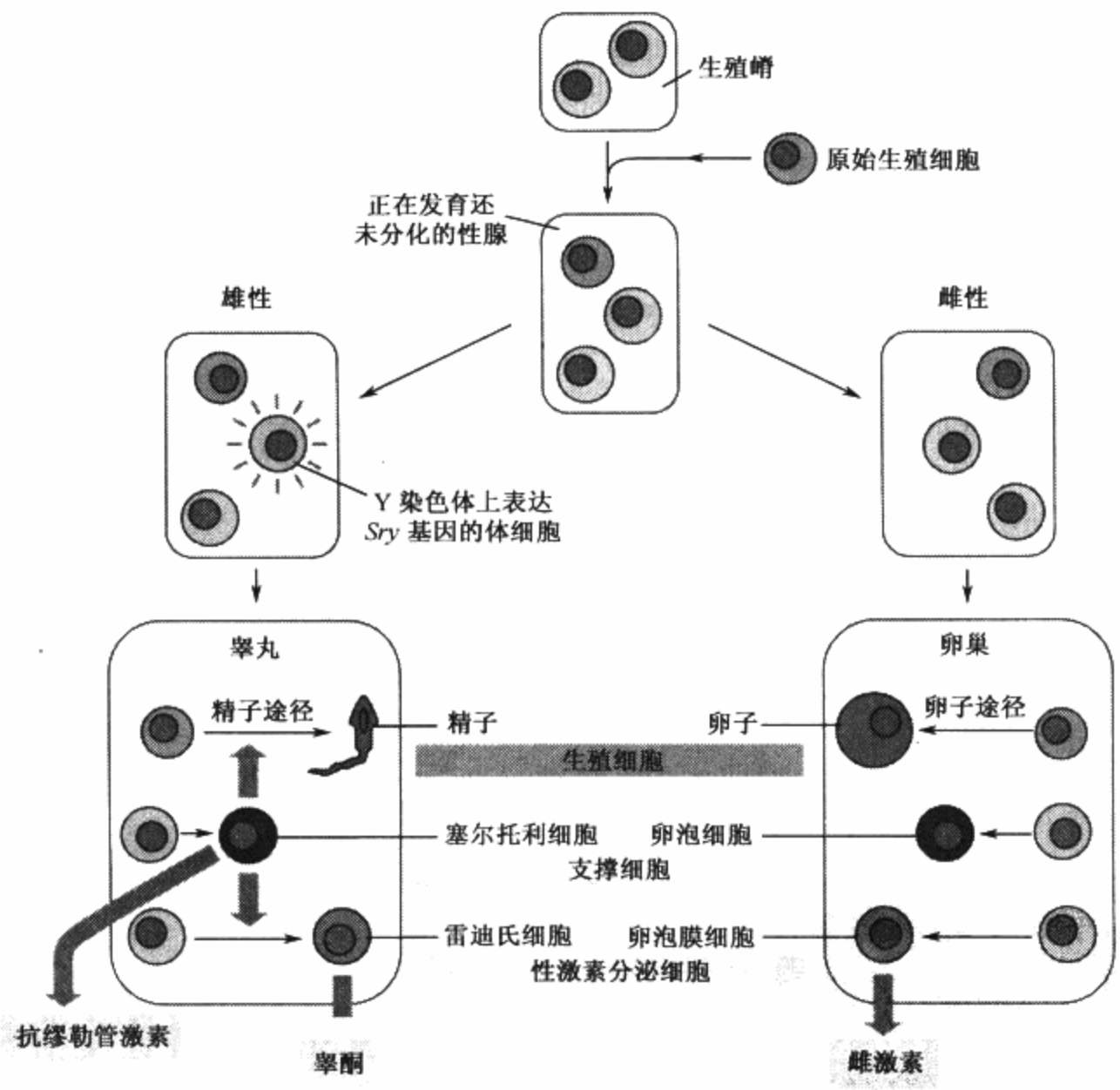


图 20-18　*Sry* 对性腺发育的影响

生殖细胞用红色阴影表示，体细胞用绿色和蓝色阴影表示。颜色从浅到深的变化表明细胞逐渐地成熟或分化。*Sry* 基因作用于正在发育的性腺的体细胞亚群，从而诱导它们分化成塞尔托利细胞而不是卵泡细胞。然后，塞尔托利细胞诱导原始生殖细胞发育成精子。它们也分泌使缪勒管退化的抗缪勒管激素，而且帮助诱导其他的体细胞分化成分泌睾酮的雷迪氏细胞（图 20-28）。在 *Sry* 基因不存在时，原始生殖细胞将发育成卵子，而体细胞将发育成辅助卵子发育的卵泡细胞或分泌雌激素的卵泡膜细胞。雷迪氏细胞在胎儿时期就开始分泌睾酮，而卵泡膜细胞直到青春期才开始分泌雌激素

如果生殖嵴在开始发育成睾丸或卵巢之前就被去除，哺乳动物的个体不管其携带什么样的性染色体，都将发育成雌性个体。看起来好像是哺乳动物性别发育的默认途径是发育成雌性。

小结

处于原肠胚阶段的哺乳动物胚胎中，一小部分细胞被相邻细胞诱导发育成原始生殖细胞。接着，这些细胞进入即将发育成性腺的生殖嵴中。如果性腺发育成卵巢，生殖嵴中的原始生殖细胞将发育成卵子；如果性腺发育成睾丸，生殖嵴中的原始生殖细胞将发育成精子。除非处于发育中的性腺的体细胞携带一条 Y 染色体，它将发育成睾丸，否则它将发育成卵巢。Y 染色体上的 *Sry* 基因来执行睾丸决定功能：*Sry* 在一部分处于发育中的性腺的体细胞中表达，然后诱导这些细胞分化成塞尔托利细胞。塞尔托利细胞依次产生一些信号分子来促进雄性特征的发育而抑制雌性特征的发育，从而诱导原始生殖细胞朝着形成精子的方向发育。

卵子

至少从某个方面来说，卵子是动物细胞最显著的特征：它们一旦被激活，就能在几天或几周内发育成全新的个体。在高等动物中，还不存在具有这种特征的其他细胞。激活通常是受精（fertilization）的结果——精子和卵子的融合。然而，在有些生物中，精子并不是严格需要的，卵子可以通过多种非特异的化学或物理处理被人工激活。实际上，有些生物，包括一小部分脊椎动物（如蜥蜴），它们的卵子可以在精子不存在的情况下被激活，从而进行繁殖——也就是说**无性生殖（parthenogenetically）**。

虽然卵子可以产生成年生物中所有类型的细胞，但是它却是一个高度特异化的细胞，仅仅装备了产生新个体的功能。卵子细胞质甚至能重编体细胞细胞核的程序，从而使体细胞核沿着发育成新个体的方向发展。这就是著名的多莉羊如何被克隆的机制。把一个未受精的羊卵子的细胞核去除，换上一个成年羊体细胞核。用电击的方法来激活卵子，接着把卵子植入代孕羊的子宫中。这样发育成正常成年羊含有供体羊体细胞的基因组，因此是供体羊的一个克隆。

在下面的部分中，在详细讨论卵子如何发育到准备好受精的那一刻之前，我们将简短地介绍一些卵子专有的特征。

卵子储存了大量的营养物质，而且还有一层精巧的外膜，是高度专一的独立发育

大部分动物卵子都是巨大的单细胞，里面储蓄了从胚胎发育初期到新个体可以喂养之前这段时期需要的所有原料。在喂养期之前，这个巨大的细胞分裂成很多较小的细胞，但不进行生长。哺乳动物胚胎是个例外：它可以通过胎盘吸收母体的营养物质来进行早期的生长发育。因此，哺乳动物的卵子虽然比较大，但不如青蛙或鸟类的卵子大。典型的卵子一般是球形的或椭圆形的，从直径上看：人类和海胆（它喂养期的幼体比较小）的为 0.1 mm，青蛙和鱼类的为 1～2 mm，鸟类和爬行动物的则可达几厘米（图 20-19）。相比较而言，典型的体细胞直径仅有 10～20μm（图 20-20）。

卵子细胞质含有很多以卵黄（yolk）形式储存的营养物质，而卵黄富含脂肪、蛋白质和多糖，通常被包含在称为卵黄粒（yolk granule）的分散结构中。在有些生物中，每个卵黄粒

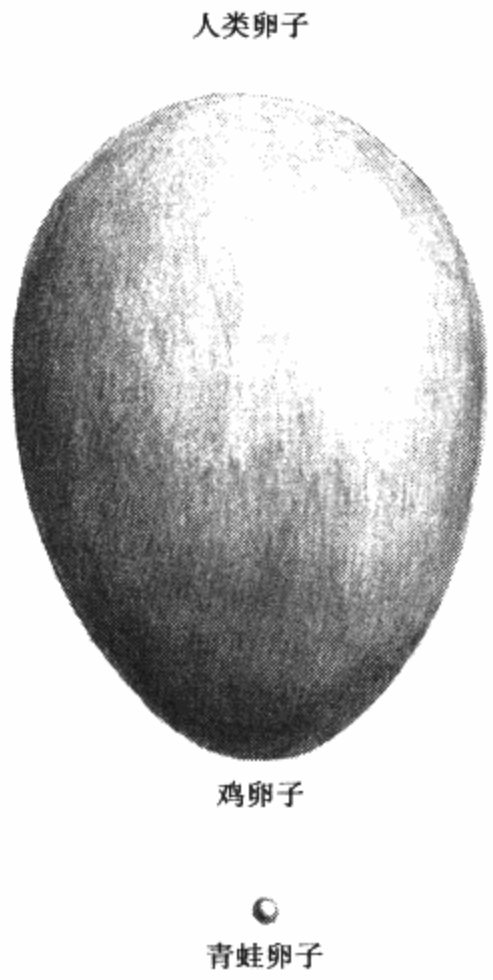


图 20-19　三种生物卵子的实际大小

人类卵子的直径为 0.1mm

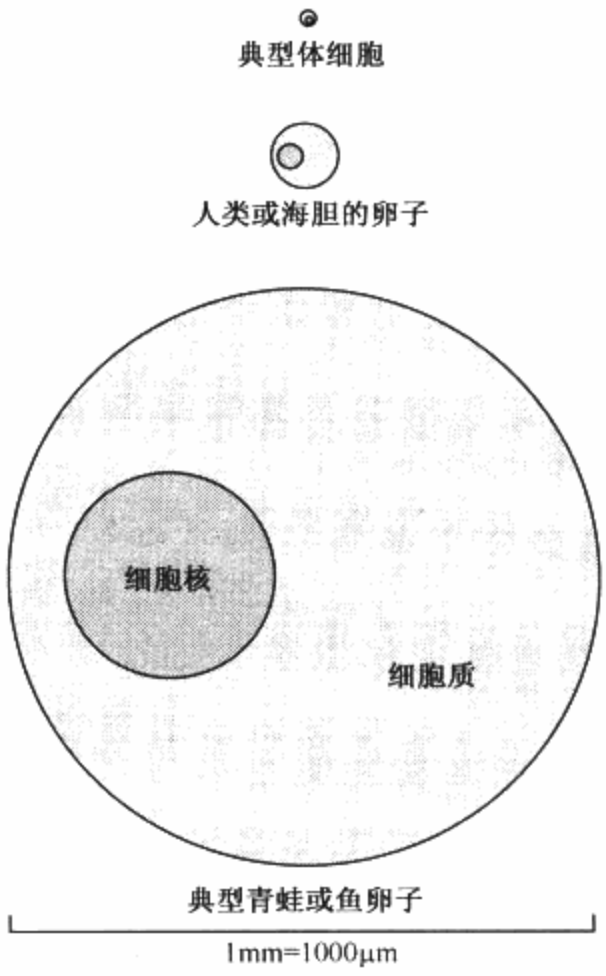


图 20-20　不同卵子的相对大小

这些卵子大小是与典型体细胞的大小进行比较

外都有一层膜包裹着，而在其他生物中则没有。在母体外发育成体积巨大的动物，它的卵子95%以上的体积被卵黄所占据。由于哺乳动物胚胎可以从母体中摄取营养，所以它们的卵子含有很少的卵黄。

卵膜（egg coat）是卵子的另一个特征。它是细胞外基质的特异化形式，由大量的糖蛋白分子组成，在这些糖蛋白中，一些是卵子自身分泌的，其他则是周围细胞分泌所沉积的。许多生物的卵膜是一层紧密围绕卵子质膜的外膜；非哺乳动物（如海胆和小鸡）的卵膜称为卵黄膜（vitelline layer），而哺乳动物的卵膜称为透明带（zona pellucida）（图 20-21）。这层膜不仅可以保护卵子免受机械的破坏，而且对于精子来说，它还作为一个物种特异的障碍，只允许相同或相近物种的精子进行融合。

许多卵子（包括哺乳动物的卵子）含有特异化的分泌泡，这些分泌泡位于质膜下面、细胞质外面或皮层（cortex）之间的区域。当卵子被精子激活时，这些皮质颗粒（cortical granule）通过胞吐作用释放出它们所含的组分；而这些颗粒组分改变了卵膜的组成，从而阻止了其他的精子与卵子融合（看下面讨论）。皮质颗粒通常均匀地分布于卵子皮层区域，但在一些生物中，其他的细胞质组分是非常不均匀分布的。在这些局部组分中，有些组分在后期发育中帮助形成胚胎的极性，我们将在第 21 章中详细讨论。

各个时期的卵子发育

正在发育的卵子称为**卵母细胞（oocyte）**。卵母细胞发育成成熟的卵子需要进行一系列的分化过程，而分化过程进行的时期和减数分裂进行的时期相一致，在这段时期，生殖细胞经历了两次高度特异的细胞分裂。卵母细胞已经进化发展了一种特殊的机制来停止发育进行减

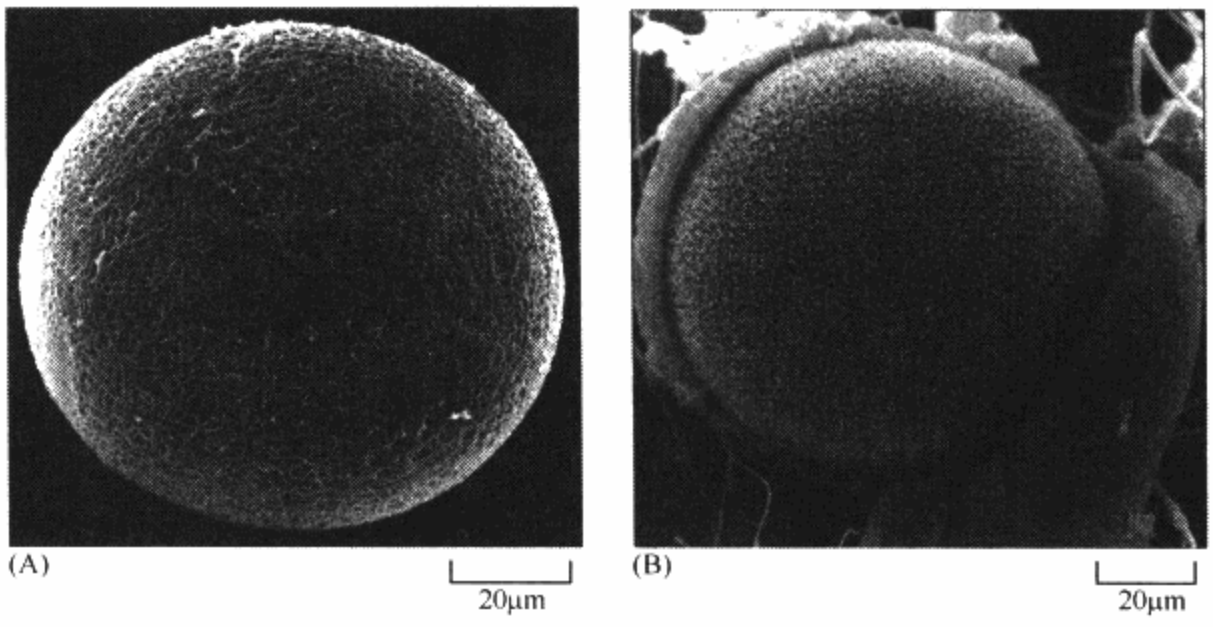


图 20-21　透明带

（A）仓鼠卵子扫描电镜图：显示了其透明带。（B）剥离了透明带（上面附着了很多精子）的仓鼠卵子扫描电镜图：显示了透明带下面的质膜，在它上面有很多微绒毛。透明带完全是由处于发育中的卵母细胞形成的（摘自 D. M. Philips，*J. Ultrastruct. Res.* 72：1～12，1980）

数分裂：它们暂停在前期Ⅰ为很长一段时间，而只增大卵母细胞的体积；在很多情况下，它们后来还会暂停在中期Ⅱ等着受精（当然不同物种的生物，卵母细胞也能暂停在减数分裂的其他时期）。

虽然卵子发育（**卵子发生，oogenesis**）的具体细节是因物种而异的，但卵子发生的各个时期是相似的，概括在图 20-22。原始生殖细胞进入发育的性腺中形成卵原细胞，接着在分化成初级卵母细胞之前（primary oocyte）进行有丝分裂来增殖一段时间。在这段时期（通常在哺乳动物出生之前）开始进行第一次减数分裂：DNA 进行复制从而使每条染色体由两条姐妹染色单体组成，然后完成复制的同源染色体沿着长轴进行配对，接着在同源染色体对的非姐妹染色单体之间发生染色体交换。上述过程完成后，细胞就暂停在减数分裂期前期Ⅰ（这段时期类似于有丝分裂的 G_2 期，这点我们以前曾经指出过）很长一段时间，根据物种的不同，可以持续几天甚至几年。在这段长的时期（或在一些生物的性成熟初期），初级卵母细胞合成一层卵膜和卵黄颗粒。而一些巨大的非哺乳动物的初级卵母细胞也积累核糖体、卵黄、糖原、脂肪和某些 mRNA——编码胚胎发育早期所需和解码发育程序的蛋白质。在许多卵母细胞中，活跃的生物合成活动反映在染色体的结构上：染色体去凝集，接着形成类似于“灯刷”结构的侧面环，表明它们正忙于 RNA 的合成（图 4-36 和图 4-37）。

卵母细胞发育的下一个时期称为卵母细胞成熟期（oocyte maturation）。直到卵母细胞被激素刺激开始性成熟时，这段时期才开始。在这些激素的影响下，细胞完成减数分裂Ⅰ后继续进行发育。染色体重新凝集，核膜破裂（这标志着开始成熟），接着在后期Ⅰ，同源染色体相互分离进入两个子代细胞核中，每个细胞核含有一半的初始染色体量。到减数分裂期Ⅰ末，细胞质进行不对称分裂，形成两个大小不一样的细胞：一个是小的极体（polar body），另一个是大的**次级卵母细胞（secondary oocyte）**，即卵子的前体。在这个时期，每条染色体仍然由两条姐妹染色单体组成。像以前介绍的一样，这些染色单体直到减数分裂Ⅱ才彼此分离到子代细胞中。在后期Ⅱ，染色单体彼此分离后，大的次级卵母细胞质再进行一次不对称分裂，形成一个成熟的卵子（**egg** 或 **ovum**）和一个小的次级极体，每个细胞都含有单倍体染色体（图 20-22）。由于卵母细胞质进行了两次非对称分裂，所以它们尽管经历了两次细胞分裂，但

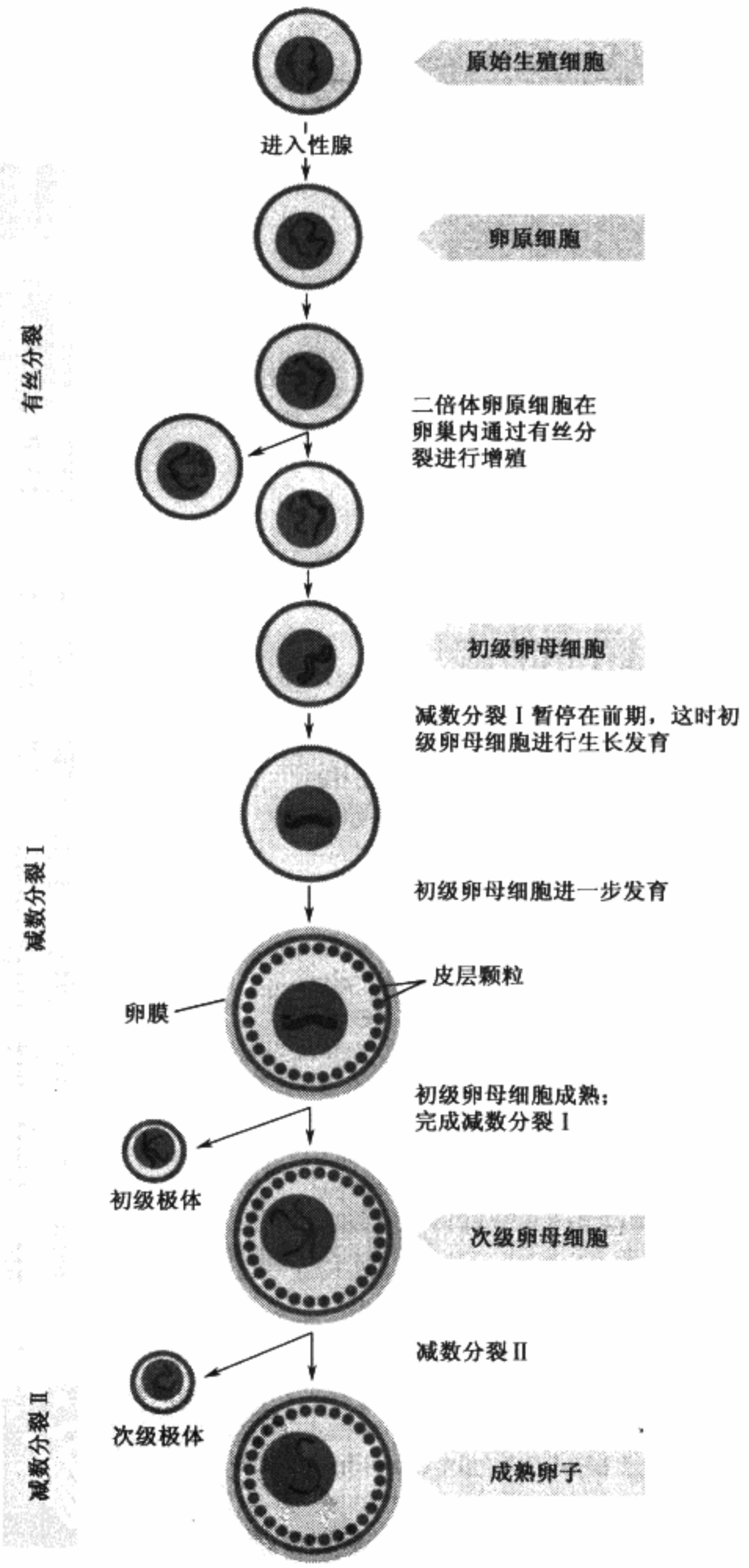


图 20-22　卵子发生的各个时期

卵原细胞是在胚胎发生早期由进入正在发育的性腺的原始生殖细胞发育而来。经过多次有丝分裂后，卵原细胞开始进行减数分裂Ⅰ，完成减数分裂Ⅰ的细胞称为初级卵母细胞。在哺乳动物中，初级卵母细胞形成得非常早（在人类怀孕 3～8 个月期间），并且暂停在减数分裂Ⅰ前期直到雌性开始性成熟。在这个时候，一小部分初级卵母细胞受雌激素的影响开始成熟，完成减数分裂Ⅰ发育成次级卵母细胞，然后继续进行减数分裂Ⅱ发育成成熟的卵子。卵子或卵母细胞从卵巢中被排出来，然后受精的时期随物种的不同而不同。在大多数脊椎动物中，卵母细胞的发育暂停在减数分裂Ⅱ中期，只有受精后，次级卵母细胞才完成减数分裂Ⅱ。所有形成的极体最终都将退化掉。在大部分动物中，正在发育的卵母细胞周围有很多特异化的辅助细胞，这些细胞可以有助于卵母细胞之间的隔离，而且也能给它们提供营养（没有显示）

仍然保持着很大体积。两个极体细胞都非常小，最终将退化掉。

在大部分脊椎动物中，卵母细胞继续发育成熟到减数分裂中期Ⅱ，然后暂停直到受精。在**排卵（ovulation）期**，暂停的次级卵母细胞从卵巢中被释放出来，然后经历了一个快速的成熟过程，发育成准备好受精的卵子。如果受精，卵子则受到刺激从而完成减数分裂。

卵母细胞采取特殊的机制生长来增长自身的体积

一个直径为 10～20μm 的体细胞在准备细胞分裂时，通常需要 24h 才能把自身的体积增加一倍。如果以这种生物合成的速度，如此的体细胞要想把自身的体积扩大千倍以上，达到直径 100μm 的哺乳动物卵子的级别，它将需要非常长的一段时间；如果想把自身的体积扩大百万倍以上，达到直径 1000μm 的昆虫卵子的级别，它将需要更长的时间。然而，有些昆虫的寿命只有几天，还要设法产生直径甚至超过 1000μm 的卵子。很显然，卵子必须采取特殊的机制生长才能获得如此巨大的体积。

细胞进行快速生长所采取的一个简单策略是细胞内有额外的基因拷贝。因此，卵母细胞暂停在第一次减数分裂期，从而使其在拥有双拷贝的双倍体染色体时进行生长。通过这种方法，卵母细胞里可用于 RNA 合成的 DNA 是处于细胞周期 G_1 期的体细胞里的两倍。有些生物的卵母细胞甚至需要更长的时间来积累额外的 DNA：它们产生某些基因额外的许多拷贝。在第 6 章我们已经讨论过：大部分生物的体细胞是如何为了产生足够的核糖体以合成蛋白质，而需要 100～500 个拷贝的核糖体 RNA 基因。在胚胎发育的早期，卵子甚至需要更多的核糖体来支撑蛋白质的合成；而在许多动物的卵母细胞中，核糖体 RNA 基因拷贝数被特异地扩增，例如，一些两栖类动物卵子含有 100 万或 200 万个拷贝的核糖体 RNA 基因。

卵母细胞的生长可能也部分地依赖其他细胞的合成活性。例如，卵黄通常在卵巢外面进行合成，然后才转移到卵母细胞里。鸟类、两栖动物和昆虫的卵黄蛋白是由肝细胞（或它们的类似细胞）合成的，然后被分泌到血液中。在卵巢内，卵母细胞通过受体介导的胞吞作用来吸收细胞外基质中的卵黄蛋白（图 13-41）。卵巢中相邻的辅助细胞也能帮助卵母细胞积累营养物质。这些辅助细胞通常分为两类。在一些无脊椎动物中，卵原细胞的一些子代细胞发育成**抚育细胞（nurse cell）**而不是卵母细胞。这些细胞通过胞质桥与卵母细胞连接在一起，通过胞质桥大分子可以直接进入卵母细胞质（图 20-23）。对于昆虫卵母细胞来说，抚育细胞合成了很多产物（核糖体、mRNA 和蛋白质等）。而脊椎动物的卵母细胞不得不自己来合成这些物质。

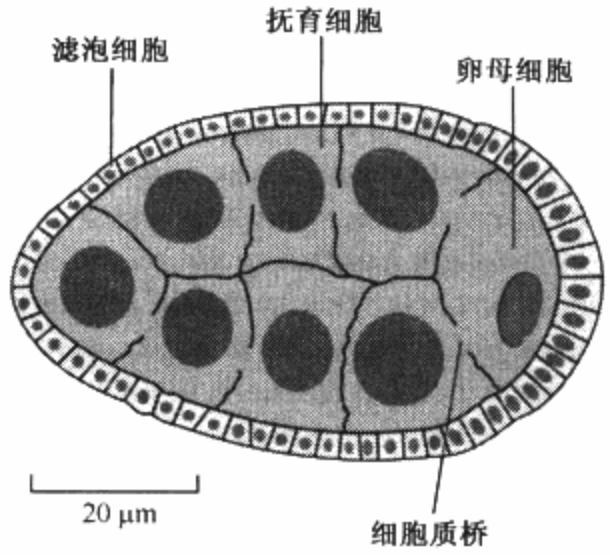


图 20-23　果蝇的抚育细胞和滤泡细胞

抚育细胞和卵母细胞都是由普通的卵原细胞发育而来，一个卵原细胞可以形成一个卵母细胞和 15 个抚育细胞（在图中的平面上只能看到其中 7 个）。这些细胞通过细胞不完全分裂时形成的细胞质桥保持着连接。最终，抚育细胞把它们的细胞质组分泵入正在发育的卵母细胞中，然后它们自己退化死亡。滤泡细胞是单独发育的（从中胚层细胞）

卵巢中另一类辅助细胞是普通的体细胞，称为滤泡细胞（follicle cell），也可以帮助滋养发育中的卵母细胞。在无脊椎动物和脊椎动物中都发现了滤泡细胞。它们围绕着卵母细胞排列形成上皮层（图 20-24 和图 20-23），通过只允许小分子不允许大分子交换的间隙连接与卵母细胞连接在一起。虽然滤泡细胞不能通过间隙连接给卵母细胞提供预先形成的大分子，但它们可以提供合成大

分子需要的较小的前体分子。此外，滤泡细胞还经常分泌一些大分子，有些可以参与卵膜的形成，有些可以被发育中的卵母细胞通过受体介导的胞吞作用吸收进去，还有一些作用于卵子细胞的表面受体来控制卵子的空间构型和轴不对称性（详见第 21 章）。

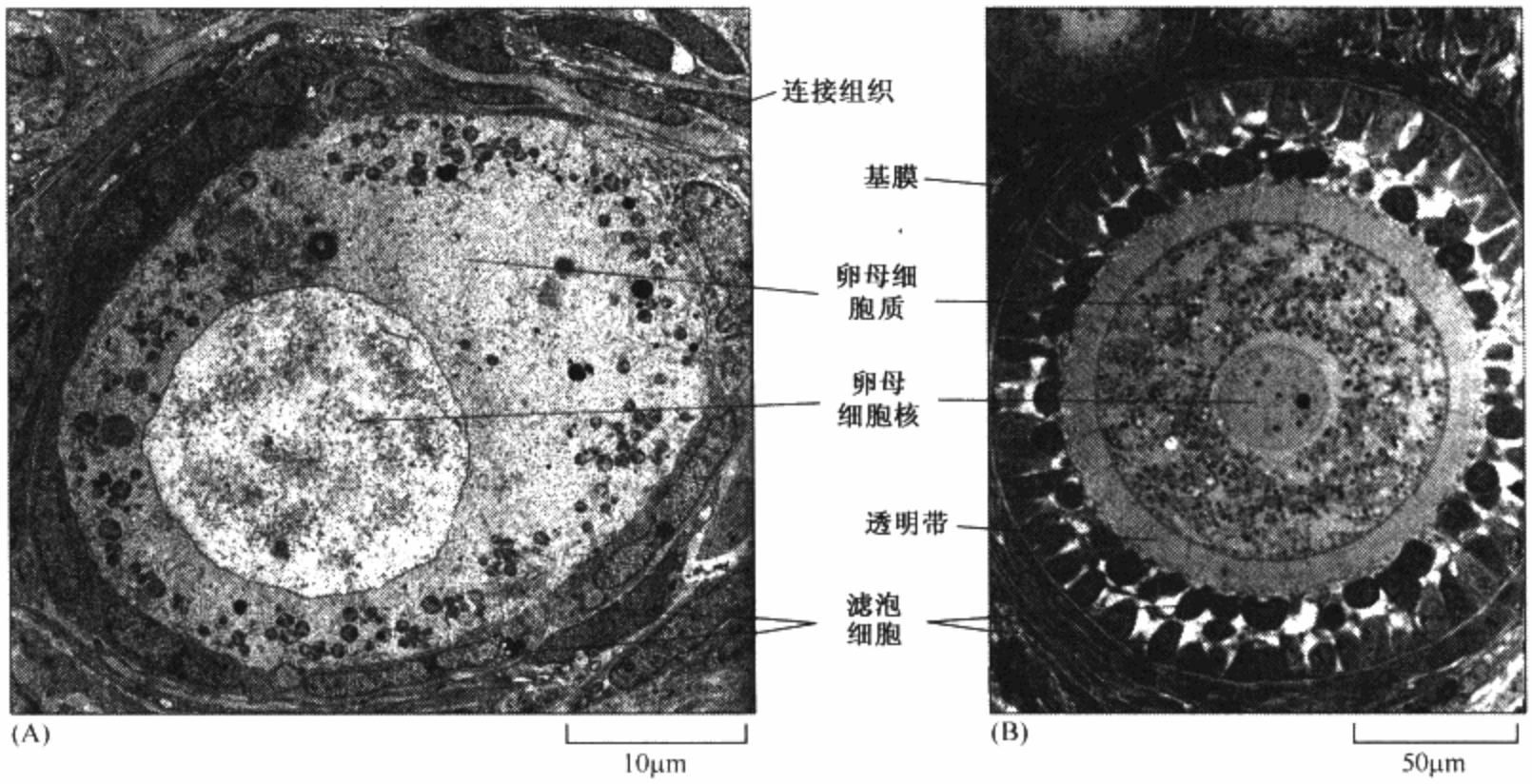


图 20-24　在兔子卵巢中，正在发育的初级卵母细胞的电镜图

（A）初级卵母细胞发育的早期。透明带和皮层颗粒都还没形成，卵母细胞周围是一层扁平的滤泡细胞。（B）一个比较成熟的初级卵母细胞：由于它比（A）图中的细胞大得多，所以它以小 6 倍的放大率显示出来。这个卵母细胞已经形成了一层厚的透明带，而周围则形成了几层滤泡细胞和一层能把它与卵巢中其他细胞分开的基膜。初级卵母细胞和它周围的滤泡细胞一起被称为初级滤泡。滤泡细胞通过间隙连接与其他滤泡细胞和卵母细胞相连（摘自《哺乳动物生殖的细胞基础》[J. Van Blerkom and P. Mottaeds.]. Baltimore-Munich：Urban & Scawarzenberg，1979.）

小结

从原始生殖细胞在发育早期进入发育中的性腺到形成卵原细胞这段时期，卵子进行生长发育。卵原细胞经过有丝分裂增殖发育成初级卵母细胞，接着开始减数分裂期Ⅰ。而依赖于物种的不同，初级卵母细胞可以暂停在前期Ⅰ几天甚至几年。在暂停的前期Ⅰ期间，初级卵母细胞进行生长，合成卵膜以及积累核糖体、mRNA 和蛋白质，这些过程经常需要其他细胞（包括周围的辅助细胞）的帮助。在成熟过程中，初级卵母细胞完成减数分裂Ⅰ，形成一个小的极体和一个大的次级卵母细胞，后者继续进行到减数分裂中期Ⅱ。许多生物的次级卵母细胞一直暂停在中期Ⅱ，直到受精时被刺激才继续完成减数分裂并且开始胚胎发育。

精子

大部分生物都有两种根本不同的配子。卵子经常是生物体中最大的细胞，而**精子**（**sperm** 或 **spermatozoon**，复数 **spermatozoa**）则经常是最小的细胞。卵子和精子已经发展了相反的机制来遗传它们所携带的基因。卵子是不能运动的，它通过大量地储存生长发育所需要的原料并且把这些原料包裹起来进行有效的保护，从而帮助母系基因遗传下去。相反，精子则利用母体的养料来帮助父系基因遗传下去：它通常具有很强的运动功能，为了快速运动而呈流线

型，能够高效率地完成受精过程。精子之间的竞争是十分激烈的，而且绝大部分都失败了：在男性的育龄期间，数十亿的精子被释放出来，但只有一小部分可以设法让卵子受精。

精子高度适应于把它们的 DNA 释放到卵子中

典型的精子是“精简的”细胞，它们配备着一根功能强大的鞭毛，可以促使精子通过液体介质而不被核糖体、内质网或高尔基体等胞质细胞器所阻碍，但鞭毛对于精子把 DNA 释放到卵子中来说是不必要的。然而，精子在能为鞭毛最有效地提供动力的地方含有很多的线粒体。精子通常由两个在形态和功能上都有明显区别的区域组成，而这两个区域是由同一个质膜所包裹：一个是尾巴（tail），它能促使精子接近卵子，还能帮助精子在卵膜上钻孔进入卵子；另一个是头部（head），它含有凝集的单倍体细胞核（图 20-25）。细胞核中的 DNA 被极度紧密地包裹在一起，从而使它的体积达到最小以利于运输，同时转录也被关闭。许多精子的染色体不需要体细胞组蛋白而需要简单的、带很多正电荷的精蛋白（protamine）来进行包装。

在大部分动物精子的头部，挨着核膜前端并行排列的是一个特异化的分泌泡，称为**顶囊（acrosomal vesicle）**（图 20-25）。顶囊内含有可以帮助精子穿透卵子外膜的水解酶。当精子接触卵子时，顶囊内所含的组分在所谓的顶体反应（acrosome reaction）中通过胞吐作用被释放出来；在一些生物的精子中，顶体反应也暴露或释放一些可以帮助精子紧密结合卵膜的特异蛋白。

精子可动的尾巴是一条很长的鞭毛，它的中心轴丝从位于细胞核后面的基粒中发散出来。像在第 16 章中描述的一样，中心轴丝由 9 个均匀分布的二联体微管围绕着两个中央单体微管组成。有些生物（包括哺乳动物）的精子鞭毛不同于其他鞭毛，在这些鞭毛中，“9 + 2”模式的中心轴丝进一步被 9 根外围致密纤维围绕着（图 20-26）。这些致密纤维非常坚硬而且不能收缩，目前也不知道它们在由相邻二联体微管相互滑动所致的鞭毛运动中起什么作用。鞭毛运动由动力马达蛋白来驱使，像在第 16 章中描述的一样，马达蛋白利用 ATP 水解的能量来滑动微管。ATP 是由位于精子尾巴前端部分（称为中部 midpiece，这儿最需要 ATP）的高度特异化的线粒体产生的。

大多数哺乳动物持续地产生精子

在哺乳动物中，卵子（卵子发生）和**精子产生**［精子发生（**spermatogenesis**）］的途径有很大的不同。例如，人类卵原细胞仅仅在胎儿时期才进行增殖，在出生前进入减数分裂期发育成卵母细胞后，就暂停在减数分裂期前期Ⅰ，甚至可达 50 年之久。一进入青春期，个体卵母细胞就从有限的营养储存中发育成熟，而且间隔一段时间就进行排卵，一般一次排一个。相反，人类精子发生和精子减数分裂直到青春期才在睾丸中进行，然后继续在紧密地缠绕的长输精管（seminiferous tubule）的上皮层中进行发育。不成熟的精子细胞称为精原细胞（spermatogonia，单数 spermatogonium），它们位于靠近基底层的输精管的外侧，在这儿它们继续通过有丝分裂进行增殖。有些子代细胞停止增殖而分化成初级精母细胞（primary spermatocyte）。这些细胞进入减数分裂前期，此时配对的同源染色体进行交换，然后继续进行减数分裂Ⅰ，产生两个次级精母细胞（secondary spermatocyte），每个细胞含有 22 条常染色体和一条 X 染色体或一条 Y 染色体。每个初级精母细胞产生的两个次级精母细胞继续进行减数分裂Ⅱ产生 4 个精子细胞（spermatid），每个细胞含有单倍体数目的染色体。然后，这些单倍体精子细胞经历了形态分化而发育成精子（图 20-27），接着进入输精管内腔（图 20-28）。随后，精子进入附睾（epididymis）（睾丸上面弯曲的管）中储存和进一步成熟。

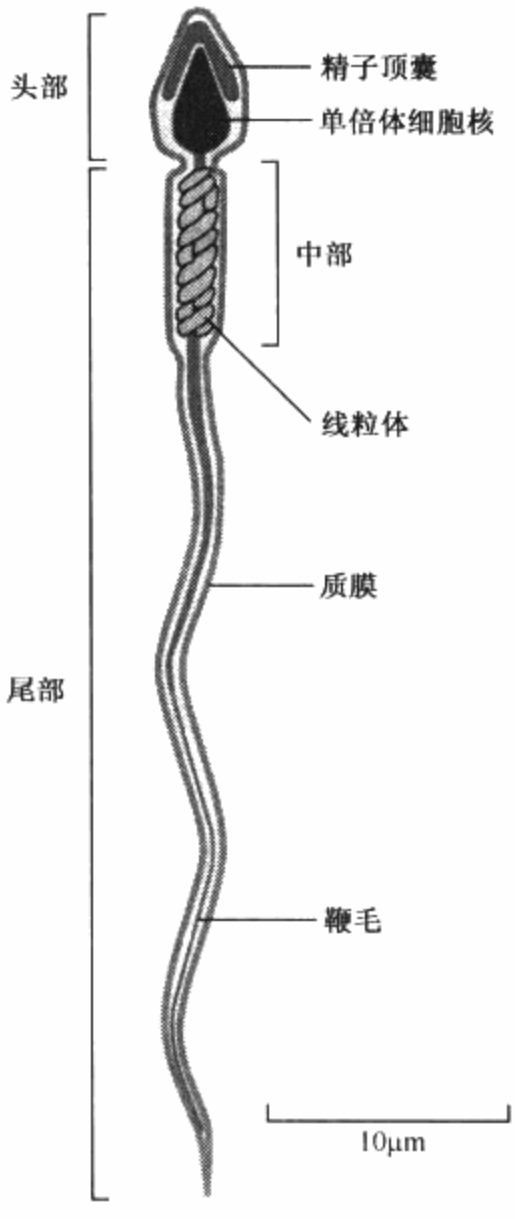


图 20-25　人类精子

显示了它的纵截面

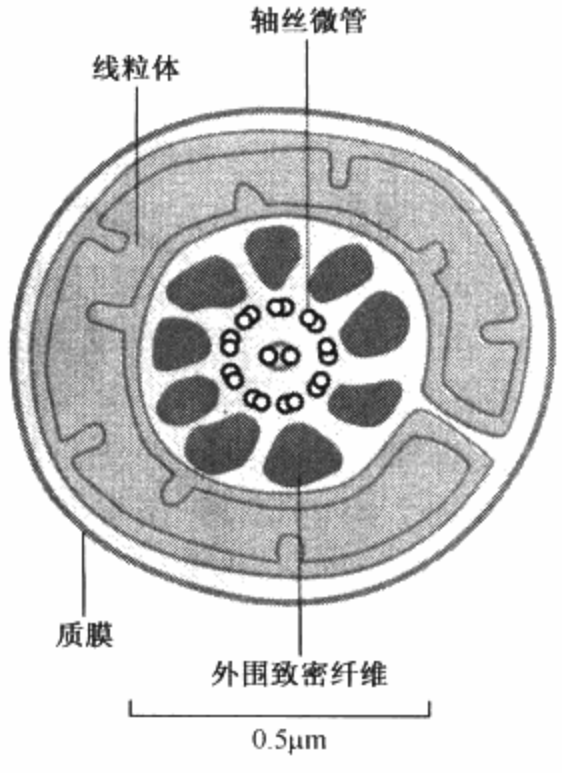


图 20-26　在电镜中看到的哺乳动物精子中部横截面示意图

鞭毛核心是由 9 根致密纤维围绕着一根轴丝组成的。而轴丝是由 9 个二联体微管围绕着两个单体微管组成的。线丝体（绿色部分）排列在易于为鞭毛运动提供所需 ATP 的地方；在精子细胞分化期间，个体线粒体进行融合形成螺旋形结构（图 20-25）

精子发生中一个有趣的特征是：在减数分裂和有丝分裂期间，发育中的雄性精子细胞不能完成胞质分裂。因此，一个成熟中的精母细胞分化产生的子代细胞克隆之间通过细胞质桥保持着连接，从而形成一个合胞体（图 20-29）。细胞质桥一直存在到精子分化结束被释放到输精管内腔的时候。这也解释了为什么可以观察到成熟的精子同时出现在输精管的任何区域。但是排列成合胞体有什么功能呢？

不像卵母细胞，精子是在它们的细胞核完成减数分裂变成单倍体细胞后，才进行大部分的分化过程。然而，在它们之间存在的细胞质桥就意味着每个发育中的单倍体精子细胞都和它的相邻细胞分享同样的细胞质。通过这种方式，可以为精子细胞提供一套完整的二倍体基因组的所有产物。例如，在发育过程中，可以为带有 Y 染色体的精子细胞提供由 X 染色体基因编码的基本蛋白质。因此，双倍体基因组像指引卵子分化一样指引着精子分化。

一些从果蝇到人的调控精子发生的基因在进化上非常保守。例如，位于 Y 染色体上、编码 RNA 结合蛋白的 *DAZ* 基因在很多不育的男性中缺失了，这样的男性大多不能产生精子。两个与 *DAZ* 同源的果蝇基因对于果蝇的精子发生来说也是必要的。RNA 结合蛋白在精子发生中是十分重要的，因为很多在精子中表达的基因是在 RNA 翻译水平被调控的。

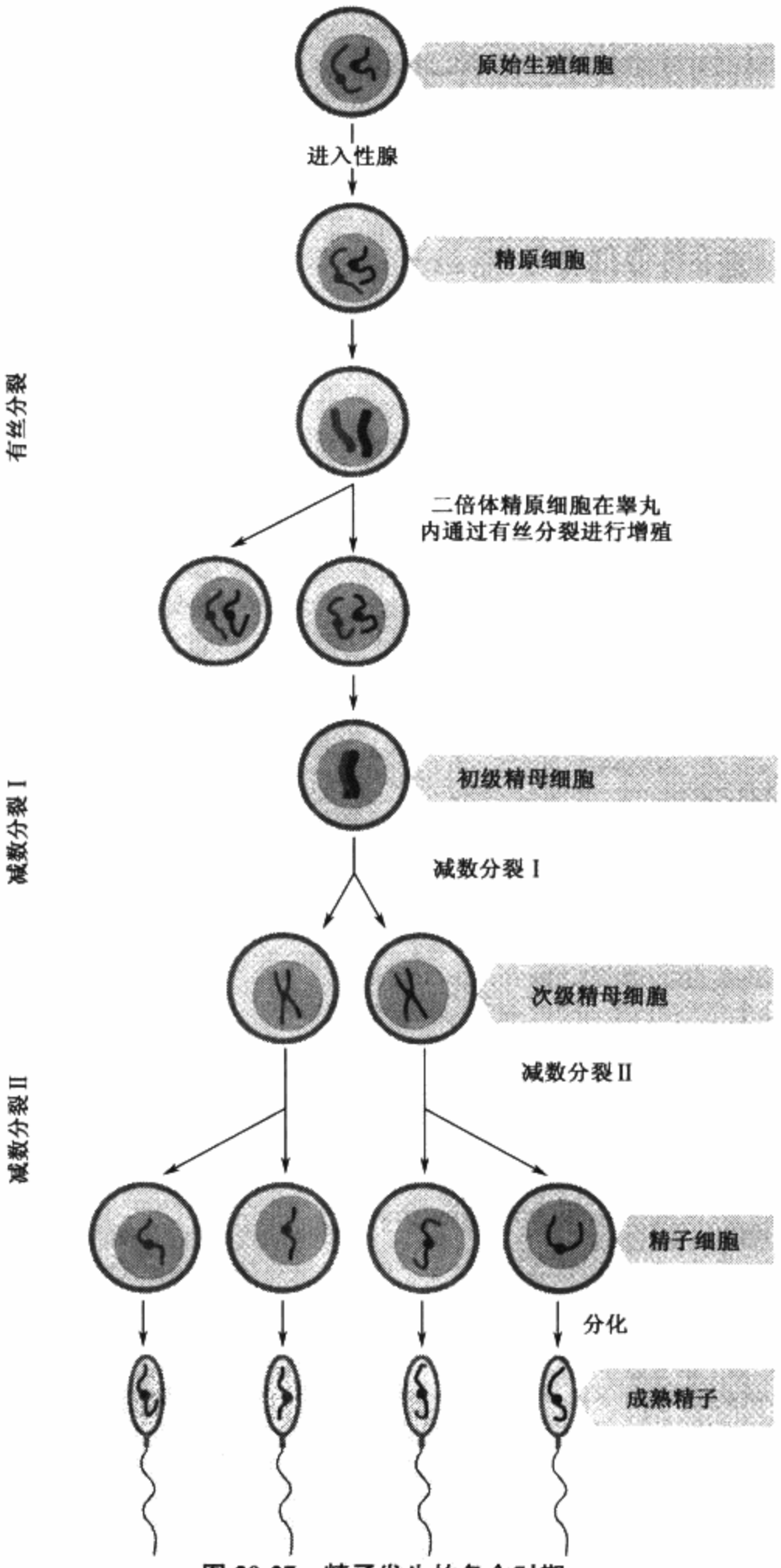


图 20-27　精子发生的各个时期

精原细胞是在胚胎发生早期由进入睾丸的原始生殖细胞发育而来的。当动物开始性成熟时，精原细胞就开始迅速增殖，产生一些具有持续分裂能力的子代细胞（如干细胞精原细胞）和另一些子代细胞（如正在成熟的精原细胞），而后者经过有限的几次有丝分裂后进行减数分裂形成初级精母细胞。初级精母细胞继续进行减数分裂 I 形成次级精母细胞。次级精母细胞完成减数分裂 II 后产生可以分化成成熟精子的单倍体精子细胞。精子发生不同于卵子发生（图 20-22）表现在下列几个方面：①从青春期开始，新的细胞持续进入减数分裂期。②进行减数分裂的每个细胞产生 4 个成熟配子而不是一个。③成熟精子是在减数分裂完成后经过复杂的细胞分化过程形成的。④在精子发生中进行细胞分裂的次数是在卵子发生中的两倍；例如，据估计在老鼠中，从受精卵到形成成熟精子的过程中平均要进行 56 次分裂，从受精卵到形成成熟卵子的过程中只需要进行 27 次分裂

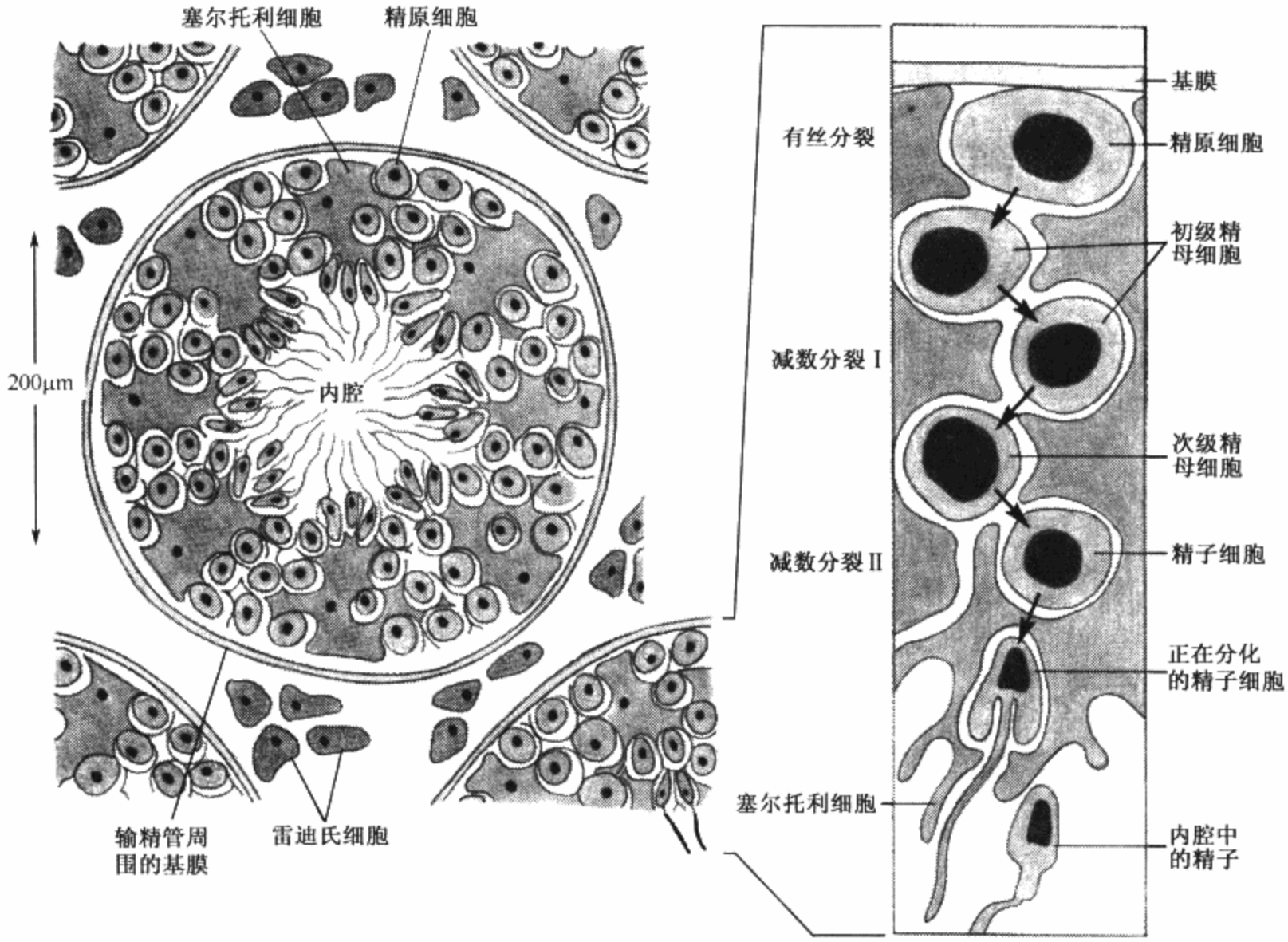


图 20-28　哺乳动物睾丸中输精管横截面的简易示意图

（A）显示了正在进行的精子发生的各个时期，这时正在发育的配子与塞尔托利细胞紧密相连。这些大的细胞从基膜一直延伸到输精管的内腔；它们是生殖细胞生长发育所必需的，而且类似于卵巢中的滤泡细胞（图 20-18）。精子发生也依赖于位于输精管之间的雷迪氏细胞分泌的睾酮。（B）在这些细胞中，一些是可以自我更新的干细胞精原细胞，另一些是成熟的精原细胞；经过几次有丝分裂后，正在成熟的精原细胞停止有丝分裂，而进入减数分裂期形成初级精母细胞。最后，精子被释放到输精管内腔。对于人类而言，精母细胞完成减数分裂发育成精子细胞需要 24 天左右，而精子细胞发育成精子还需要 5 周左右。精子还要进一步成熟，在附睾中变得具有能动能力，这时它们才是完全成熟的精子

小结

精子通常是小而紧凑的细胞，它高度专一地来行使使卵子受精的使命。人类卵母细胞的整体水平在出生前就被确定了，而男性的生殖细胞一进入性成熟期就继续进行减数分裂，因此，每个二倍体初级精母细胞产生 4 个成熟的单倍体精子细胞。精子在减数分裂后才进行分化过程，而人类完成此过程需要 5 周的时间。因为在精原细胞和精母细胞的成熟过程中都不进行细胞质分裂，所以一个精原细胞的后代发育成一个大的合胞体。因此，虽然每个精子细胞核都含有单倍体染色体，但精子分化的方向是受父母双方染色体的产物所指引的。

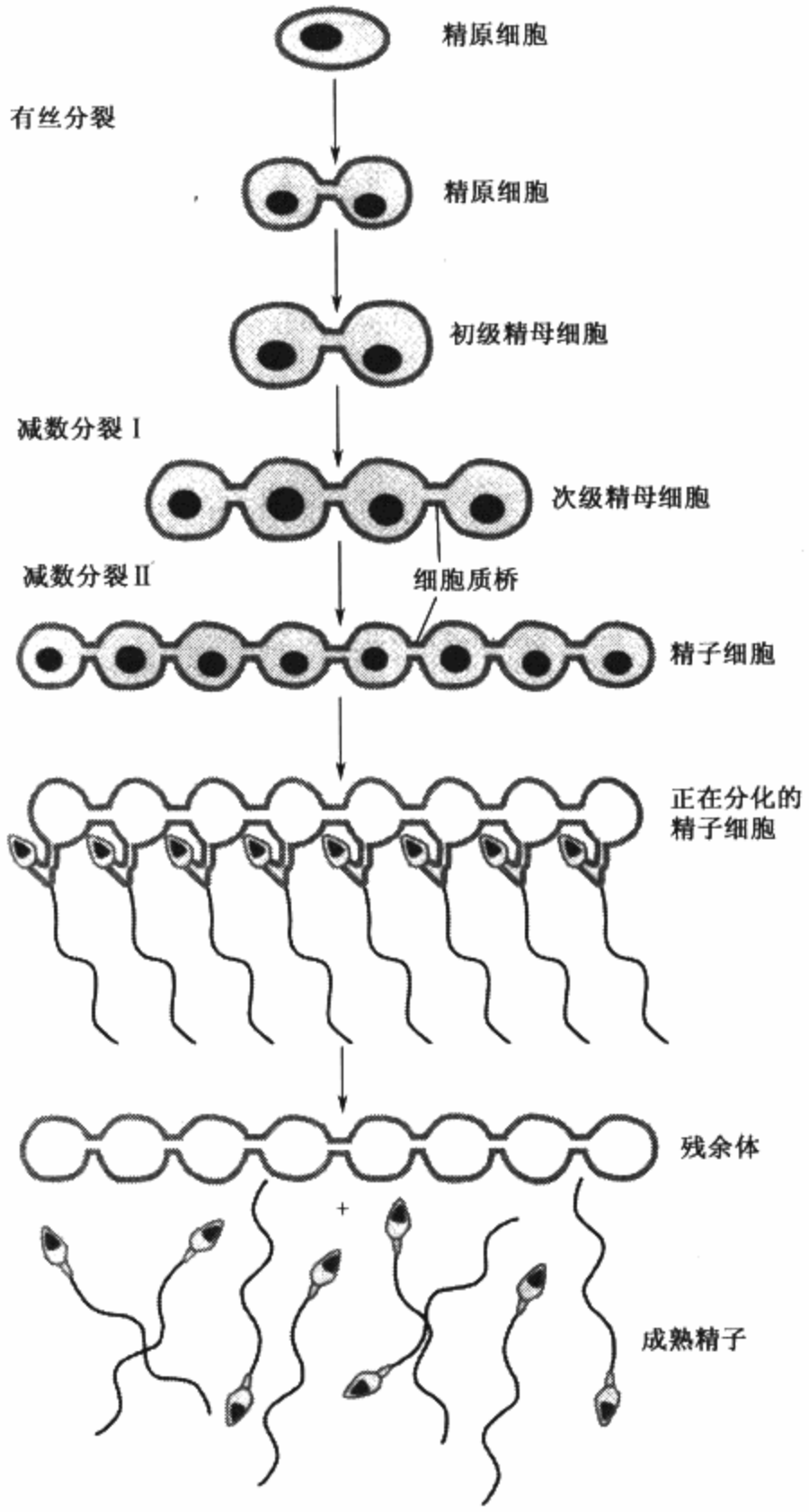


图 20-29　正在发育的精子细胞和它们的前体细胞之间的细胞质桥

一个正在成熟的精原细胞的子代细胞通过细胞质桥与另一个子代细胞保持着连接，通过它们的发育分化形成成熟的精子。为了简化，只显示了两个保持着连接的精原细胞进行减数分裂，最终形成 8 个保持着连接的单倍体精子细胞。实际上，经过两次减数分裂和同步进行的分化，保持着连接的细胞远比图中所示的多得多。注意：在分化过程中，大部分的精子细胞质作为残余体被抛弃掉

受精

卵子和精子一旦被释放出来，就注定了在几分钟或几小时内将要死亡，除非它们能互相找到对方，然后在**受精（fertilization）**过程中进行融合才能活下来。通过受精，卵子和精子都获救了：卵子被激活而开始它的发育过程，两个配子的单倍体细胞核融合在一块形成一个

新的双倍体生物的基因组。受精的机制已经在海洋无脊椎动物中（特别在海胆中）进行了最为广泛的研究，大量的上述生物的精子和卵子被释放到海水中，然后精子和卵子在海水中进行受精。如此的体外受精与哺乳动物的体内受精（交配后发生于雌性动物的生殖道内）相比，更易被研究。

然而，在 1950 年末，使哺乳动物卵子进行体外受精已经变得可能，从而也开辟了分析哺乳动物受精的分子和细胞机制的方法。人们在理解哺乳动物受精机制上所取得的进展为基础医学带来很多的好处：如果把体外受精的哺乳动物卵子移植到子宫里，它就能发育成正常的个体；用这种方法，许多以前不育的妇女能够产下正常的孩子。像以前提及的一样，有可能通过把体细胞核转移到去核的未受精的卵子中，再用体外受精的方法来克隆羊、猪或老鼠。虽然关于是否应该克隆人的问题有很激烈的伦理争论，而且克隆人产生异常后代的可能性比较大，但毫不疑问也可以用同样的方法来克隆人类。在本章，我们将集中讨论哺乳动物卵子的受精过程。

物种特异地结合到透明区诱导了精子进行顶体反应

人类进行性交时，有 300 000 000 多个精子被释放出来，但大约仅有 200 个精子能够到达输卵管中的受精部位。有证据表明，被释放出的卵子周围有一层滤泡细胞，由这些细胞释放的化学信号分子可以吸引精子趋向卵子，但这些化学引诱物的分子机制目前还不清楚。一旦精子找到卵子，它首先必须穿过滤泡细胞层，然后结合并穿过卵膜——即透明带（zona pellucida）。最终，精子必须与卵子质膜进行结合并发生融合。为了具备完成上述任务的能力，哺乳动物射出的精子必须在雌性生殖道中被有条件地修饰，称为**获能（capacitation）**过程，人类完成这个过程需要五六个小时的时间。阴道中的碳酸氢盐离子（HCO_3^-）启动了获能的进行，HCO_3^- 进入精子中直接激活了溶解在胞液中的腺苷酸环化酶。环化酶产生的 cAMP（详见第 15 章）帮助起始了与获能相关的一系列变化。获能改变了精子质膜的脂肪和糖蛋白组成，增强了精子的代谢和运动能力，而显著地降低了精子的膜电位（也就是膜电位变成更负的值，以至于膜变的超极化）。

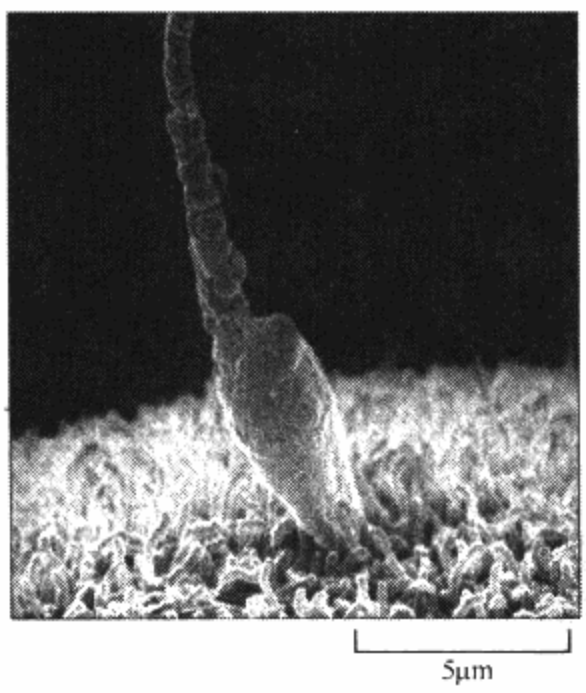


图 20-30　人类精子结合仓鼠卵子的扫描电镜图

已经去除了卵子的透明而暴露出含有很多微绒毛的质膜。个体精子穿透仓鼠卵子的能力被用来估计雄性个体的生育能力：如果精子穿透卵子的概率超过10%～25%，就认为这个精子是正常的（Courtesy of David M. Phillips）

一旦获能的精子穿过滤泡细胞层，它将结合到**透明带**上（图 20-21）。透明带通常作为不同物种之间进行受精的障碍，如果把它去除通常也就消除了物种之间的障碍。例如，人的精子可以使用特异酶去除透明带的仓鼠卵子受精；但不奇怪的是，如此杂合的受精卵不能继续进行发育。然而，去除透明带的仓鼠卵子有时被用在不育症的诊断上，来估计人类精子在体外的受精能力（图 20-30）。

哺乳动物卵子的透明带主要由三种糖蛋白组成，这三种糖蛋白都专一地由处于发育中的卵母细胞合成。其中有两个（ZP2 和 ZP3）排列成长的纤维丝，而第三个，ZP1，把纤维丝交联成三维网状结构。其中 ZP3 蛋白十分关键：带有无活性 *ZP3* 基因的雌性小鼠产生的卵子缺乏透明带，而且这样的小鼠是不育的。至少在小鼠中，ZP3

负责了精子物种特异地结合到透明带上。精子表面有几个蛋白质能够结合 ZP3 上特异的 *O*-连接的寡糖，这暗含了它们可能是 ZP3 的受体，但是每个蛋白质所起的功能目前还不清楚。一旦精子结合到卵子透明带上，就被诱导进行**顶体反应（acrosome reaction）**，而顶囊内所含的组分在这个反应中通过胞吐作用被释放出来（图 20-31）。至少在小鼠中，诱导顶体反应的是透明带中的 ZP3——它诱导了 Ca^{2+} 流入精子细胞液中；反过来，这又启动了胞吞作用。在所有的动物中，胞液 Ca^{2+} 浓度的升高似乎是必要的，而且足以启动顶体反应。

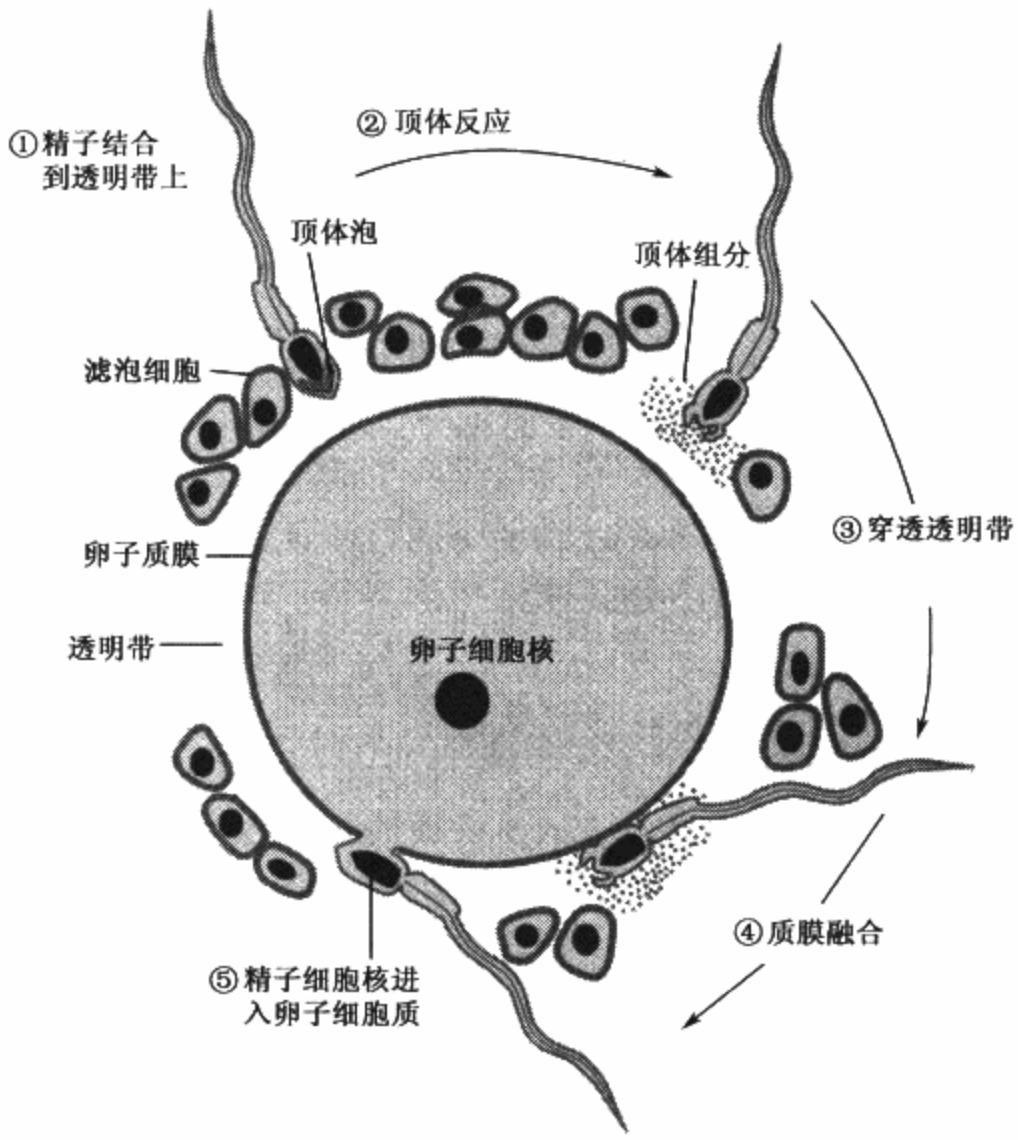


图 20-31　当精子使卵子受精时发生的顶体反应

在老鼠中，一般认为透明带中的一个糖蛋白 ZP3 负责结合精子和诱导顶体反应。注意：哺乳动物精子成切线地与卵子质膜发生相互作用，从而使融合发生在精子中纬线处而不是头部。对老鼠而言，卵子透明带大约 6μm 厚，而精子的穿透速度大约是 1μm/min

顶体反应对于受精来说是必需的。它暴露了各种可以帮助精子穿透透明带的水解酶，也暴露了精子表面上结合 ZP2 蛋白的其他蛋白质，因此也帮助了精子紧密结合并穿透透明带。此外，像我们下面讨论的一样，顶体反应也暴露了一些精子质膜上的膜蛋白，这些蛋白质可以介导精子质膜和卵子质膜的结合与融合。虽然受精通常是通过精子-卵子融合才能进行，但也能通过把精子注射进卵子细胞质内来进行人工受精；当精子-卵子融合出现问题时，有时就用人工受精的方式来治疗不育症。

卵子皮层反应确保了仅有一个精子使卵子受精

虽然很多精子都能结合到卵子上，但通常仅有一个精子能与卵子质膜发生融合并把细胞核和其他细胞器注射进卵子细胞质中。如果超过一个精子与卵子融合，称为多精入卵（polyspermy），将形成多极或多个有丝分裂纺锤体，就会导致染色体在细胞分裂时不正常分

离，将会产生非双倍体细胞，而且发育也通常停止下来。两种机制可以确保仅有一个精子使卵子受精。大多数情况下，第一个精子与卵子的融合就导致了卵子质膜的快速去极化，这样就阻止了其他精子进一步发生融合，因此作为一个多精入卵的初级障碍（primary block to polyspermy）。但是受精后不久膜电位将恢复正常，因此就需要第二个机制来确保长期的多精入卵的次级障碍（secondary block to polyspermy）。这可以通过卵子的皮层反应（cortical reaction）来完成。

当精子与卵子质膜发生融合时，将会引起细胞质中 Ca^{2+} 浓度的局部升高，然后以波的形式扩展到整个细胞。在一些哺乳动物的卵子中，初期的 Ca^{2+} 浓度升高是在长期的钙振荡之后。有证据表明，钙波或钙振荡是由精子注射进卵子内的一个蛋白质所诱导的，但这个蛋白质的性质和功能现在还不清楚。

钙波或钙振荡激活卵子继续发育，并且启动了皮层反应，在这个反应中，皮层颗粒通过胞吐作用释放出所含的组分。如果人工地提高细胞质中的 Ca^{2+} 浓度，即直接注射 Ca^{2+} 或间接地利用 Ca^{2+} 载体（详见第 11 章），至今为止，所有测试过的动物（包括哺乳动物）卵子都被激活。相反，通过注射 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 来阻止 Ca^{2+} 浓度的升高，从而抑制了卵子在受精过程中被激活。皮层颗粒中的组分包含了在皮层反应中被释放出来并能改变透明带结构的各种酶。透明带变构以后会变得很硬，以至于精子不能再结合在上面，因此阻止了多精入卵的发生。在透明带发生变化的过程中，ZP2 被蛋白酶水解，而 ZP3 的糖基也被水解掉（图 20-32）。

精子-卵子融合的机制目前仍然不清楚

在精子穿透卵子的外膜以后，它就与在卵子表面的微绒毛顶端上面的质膜发生相互作用（图 20-30）。然后，相邻的微绒毛迅速地伸长并围着精子簇集在一起，这样就确保精子被牢固地固定在卵子上，从而可以和卵子发生融合。融合之后，由于卵子表面的微绒毛重新被吸入而发生收缩，整个精子先从头部被拉进卵子内。在老鼠精子内，有一个在顶体反应中暴露在精子表面的跨膜蛋白，称为受精素（fertilin），可以帮助精子结合在卵子质膜上，可能也在两个质膜的融合中扮有重要的角色。

受精素（fertilin） 由两个糖基化的跨膜亚基（α 亚基和 β 亚基）组成，这两个亚基通过非共价键连在一起（图 20-33）。一般认为受精素亚基的细胞外 N 端区域与卵子质膜上的整合素相结合，因此就帮助精子锚定在卵子质膜上并准备好融合。位于卵子质膜上的整合素与属于膜蛋白的四跨膜家族的一个成员有关——所谓四跨膜家族，是因为这个家族的蛋白质都有 4 个跨膜的区域。此蛋白质失去功能的雌性小鼠是不育的，因为它们的卵子不能与精子发生融合。受精素 α 亚基的细胞外区域含有一段类似于病毒融合蛋白融合区的疏水区，病毒融合蛋白介导了包膜病毒与它们所感染的细胞之间的融合（详见第 13 章）。与受精素 α 链的这个区域相应的人工合成肽段也能在试管中诱导膜的融合，这和可能是受精素帮助介导了精子-卵子融合相一致。

受精素失去功能的雄性小鼠是不育的，而且它们的精子在与卵子质膜的结合能力上比正常精子低 8 倍左右，但在与卵子融合上只低 50%左右。令人惊奇的是，这些缺陷似乎不是不育的主要原因。受精素失去功能的精子在结合透明带和从子宫转移到输卵管的能力上甚至更低，然而卵子可以正常受精。很显然，受精素在受精中的作用比最初猜测的更加复杂，而且目前仍然不完全清楚。受精素失去功能的精子在试管中仍然能使卵子受精（虽然不是很有效）的发现表明：还有其他的精子蛋白也帮助介导精子与卵子质膜的结合并融合。

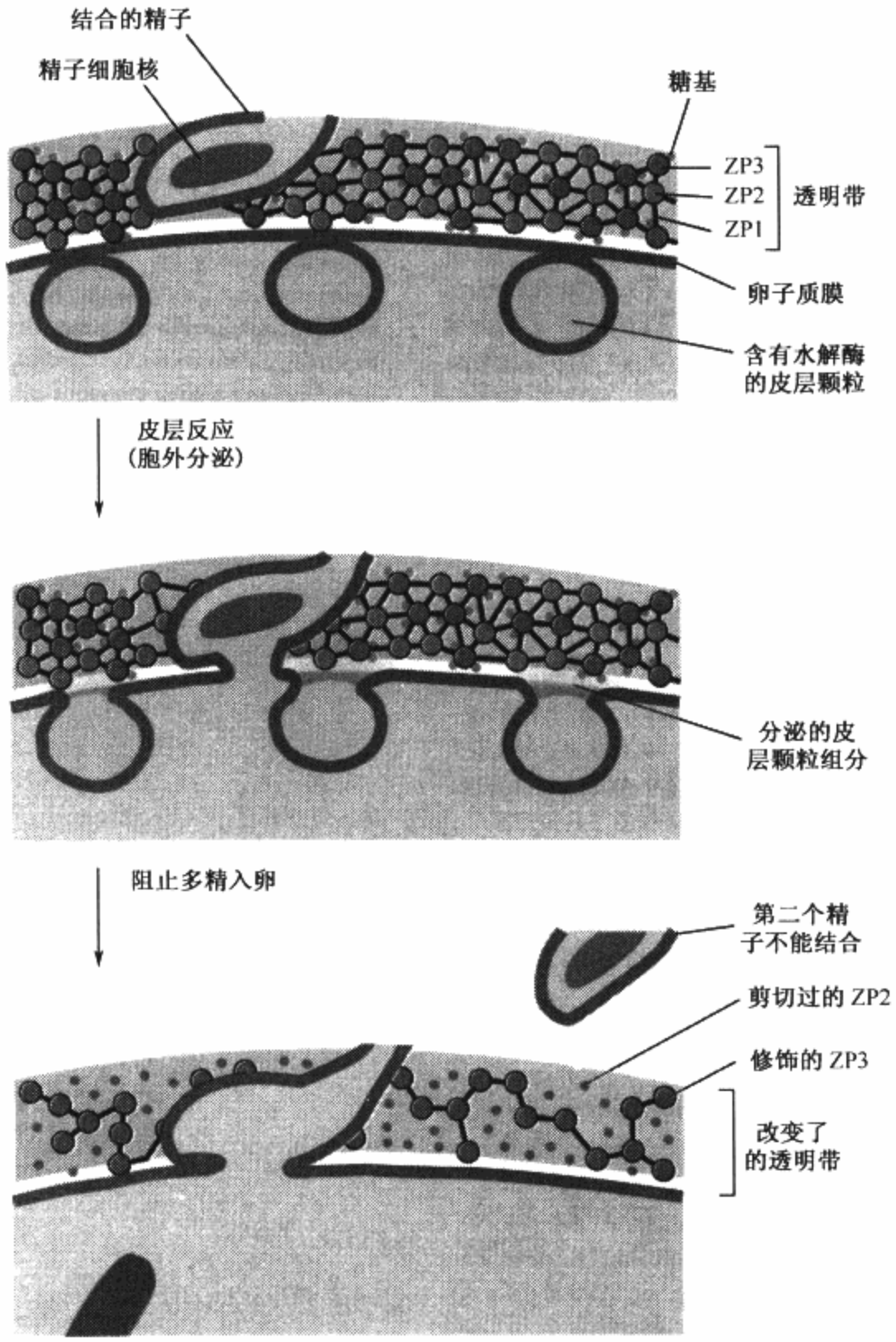


图 20-32　小鼠卵子是如何通过皮层反应来阻止其余的精子进入卵子的

释放出的皮层颗粒组分不仅去除了 ZP3 上的糖基使其不再能与精子质膜结合，而且还部分地切除了 ZP2，使透明带变得坚硬。这些变化就阻止了多精入卵的发生

随着人们对哺乳动物受精的细胞生物学理解得更加透彻，以及介导受精过程各步的分子被逐步鉴定出来，采取新的避孕策略变得可能。如现在正研究的一个方法是用繁殖需要的分子去免疫男性或女性，希望产生的抗体可以抑制这些分子的活性。除了参与繁殖的各种激素和它的受体外，ZP3 和受精素可能也是合适的目标分子。一个可选择的方法将是改变在受精过程中起作用的配体上相应的寡糖或肽段，如推测的受精素上整合素结合区域。这样的小分子在试管中通过与正常配体竞争受体从而抑制了受精。

精子为受精卵提供了一个中心粒

受精的卵子称为**受精卵（zygote）**。然而，直到两个单倍体细胞核（称为前核，pronuclei）发生融合，并把它们的染色体混合在一起形成一个双倍体细胞核时，受精过程才完成。

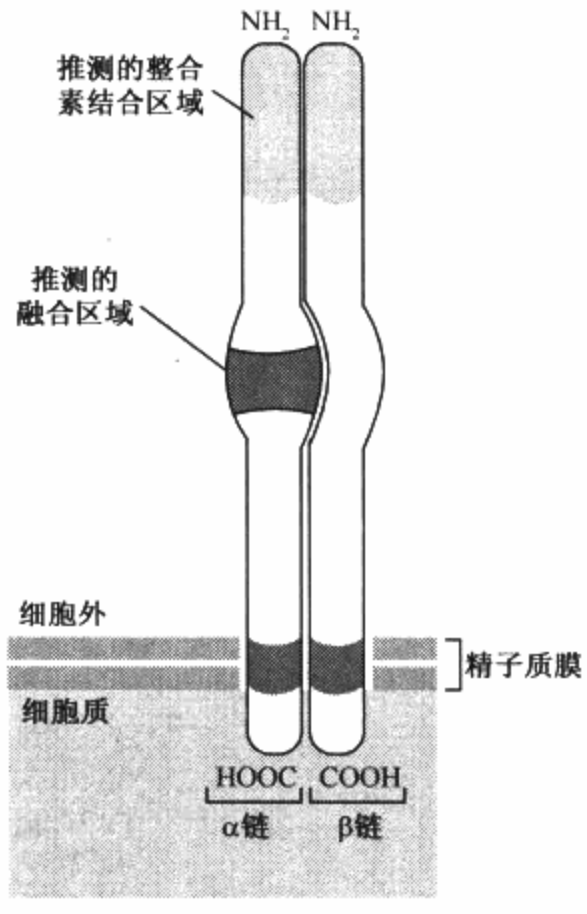


图 20-33　精子质膜上的受精素蛋白

都糖基化（图中没显示）的 α 和 β 亚基通过非共价键相互作用。两个亚基都属于 ADAM 蛋白家族，一般认为这个家族的蛋白质在细胞黏着和其他跨膜蛋白的水解过程中都起作用（如缺刻，详见第 15 章）。通常位于受精素蛋白氨基末端的水解链在精子成熟过程中被切除

在受精的哺乳动物卵子中，不像在其他生物中一样，这两个细胞核不能直接融合。它们互相靠近但保持着区别，直到为了准备受精卵第一次有丝分裂，每个细胞核的核膜破裂以后（图 20-34）。

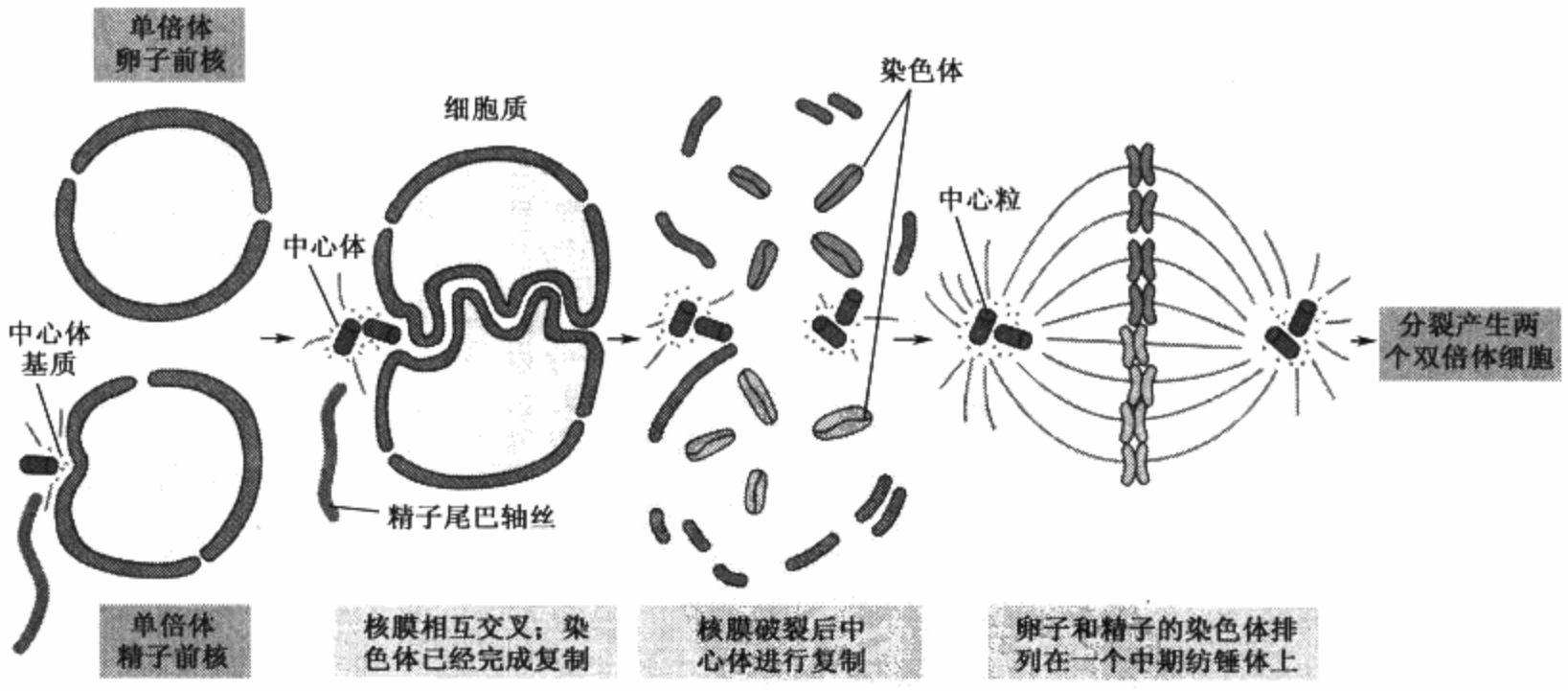


图 20-34　哺乳动物受精后精子和卵子的细胞核融合在一起

两个细胞核都移向卵子中心。当精子和卵子融合时，它们的核膜相互交叉。中心体进行复制，核膜破裂，最终两个配子的染色体整合排列在一个有丝分裂纺锤体上，这个纺锤体介导了受精卵的第一次细胞分裂（选自 Daniel Szöllösi 提供的电镜图和示意图）

在大部分动物中，包括人类，精子提供给受精卵的不仅仅是 DNA。它也提供了一个中心

粒——未受精的人类卵子缺少的一个细胞器。精子的中心粒与精子细胞核和尾巴一起进入卵子中，然后围绕着中心粒形成一个中心体。对人类而言，它复制并且帮助组织受精卵第一次有丝分裂纺锤体的装配（图 20-35）。这也解释了为什么在多精入卵时会形成多极或多个有丝分裂纺锤体，因为多个精子都给卵子提供中心粒。

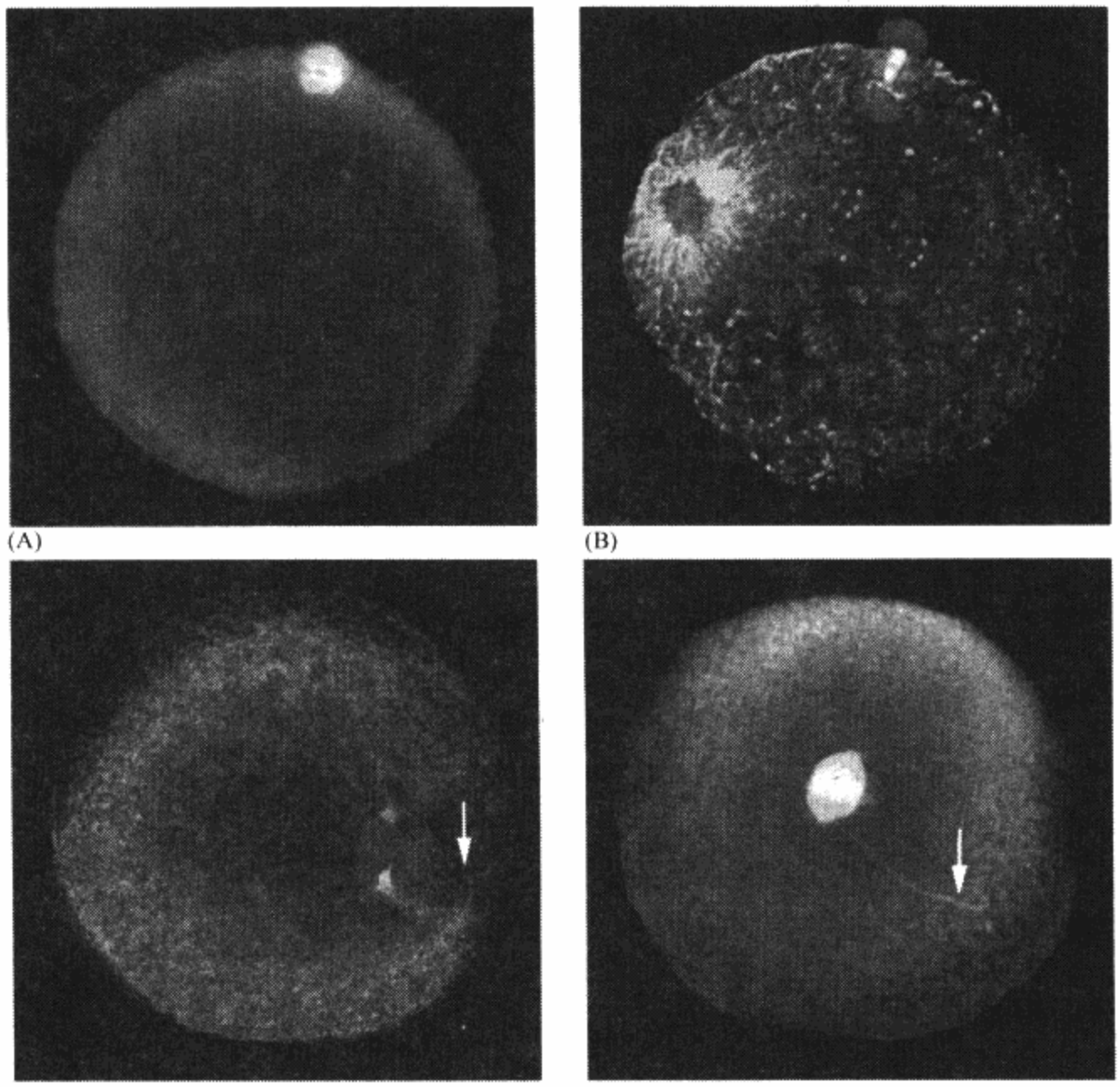


图 20-35　体外受精后，人类精子细胞核和卵子细胞核进行融合的免疫荧光显微图

纺锤体微管用微管蛋白抗体染成绿色，而 DNA 用 DNA 染料染成蓝色。（A）未受精的成熟精母细胞中的减数分裂纺锤体。（B）受精的卵子正在挤出它的第二个极体，图中显示了与精子融合后 5h 的情况。精子头部（左边）已经聚集一束维管。（C）这两个细胞核已经开始融合。（D）在精子和卵子融合 16h 后，和精子一起进入卵子的中心体已经完成复制，而且子代中心体已经装配了一个双极的有丝分裂纺锤体。两个细胞核中的染色体都排列在一个中期纺锤体的赤道板上。像在（C）和（D）中箭头所示，精子尾巴和中心体其中的一个相连（摘自 C. Simerly et al.，*Nat. Med.* 1：47～53，1995. Macmillan Magazines Ltd）

受精标志着在所有生物中最显著现象之一——胚胎发生过程的开始，通过这个过程，受精卵就发育成新的个体。这就是我们下一章的内容。

小结

当精子头部以物种特异的方式结合到卵子周围的透明带时，哺乳动物就开始受精。这包括在精子中发生的顶体反应，它释放了精子顶囊中的组分，同时也暴露了一些能帮助精子穿

透透明带到达卵子质膜从而与卵子进行融合的酶。精子与卵子的融合诱导了卵子中 Ca^{2+} 信号的释放。而 Ca^{2+} 信号激活卵子进行皮层反应，在反应中，皮层颗粒释放出它们的组分，包括一些可以改变透明带结构从而阻止其他精子进一步融合的酶。Ca^{2+} 信号也能诱导受精卵进行发育，在精子和卵子的单倍体细胞核融合并且它们的染色体排列在同一个有丝分裂纺锤体（它介导受精卵进行第一次分裂）上以后，受精卵才开始发育。

参 考 文 献

一般文献

Austin CR & Short RV (eds) (1982) Reproduction in Mammals Vol I, Germ Cells and Fertilization, 2nd edn. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Gilbert SF (2000) Developmental Biology, 6th edn, pp 185–221. Sunderland, MA: Sinauer.

Knobil E, Neill JD, Greenwald GS et al. (eds) (1994) Vol 1 and 2, The Physiology of Reproduction, 2nd edn. New York: Raven Press.

The Benefits of Sex

Barton NH & Charlesworth B (1998) Why sex and recombination? *Science* 281, 1986–1990.

Maynard Smith J (1978) Evolution of Sex. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Meiosis

Carpenter AT (1994) Chiasma function. *Cell* 77, 957–962.

Cherry JM, Ball C, Weng S et al. (1997) Genetic and physical maps of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 387(Suppl), 67–73.

Dej KJ & Orr-Weaver TL (2000) Separation anxiety at the centromere. *Trends Cell Biol.* 10, 392–399.

Eichenlaub-Ritter U (1994) Mechanisms of nondisjunction in mammalian meiosis. *Curr. Top. Dev. Biol.* 29, 281–324.

Kleckner N (1996) Meiosis: how could it work? *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 93, 8167–8174.

Roeder GS (1997) Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Genes Dev.* 11, 2600–2621.

Smith KN & Nicolas A (1998) Recombination at work for meiosis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8, 200–211.

Zickler D & Kleckner N (1999) Meiotic chromosomes: integrating structure and function. *Annu. Rev. Genet.* 33, 603–754.

Primordial Germ Cells and Sex Determination in Mammals

Goodfellow PN & Lovell-Badge R (1993) SRY and sex determination in mammals. *Annu. Rev. Genet.* 27, 71–92.

McLaren A (1999) Signaling for germ cells. *Genes Dev.* 13, 373–376.

Swain A & Lovell-Badge R (1999) Mammalian sex determination: a molecular drama. *Genes Dev.* 13, 755–767.

Williamson A & Lehmann R (1996) Germ cell development in Drosophila. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 12, 365–391.

Wylie C (1999) Germ cells. *Cell* 96, 165–174.

Eggs

Baker TG (1982) Oogenesis and ovulation. In Reproduction in Mammals: Vol I, Germ Cells and Fertilization (Austin CR & Short RV eds), 2nd edn, pp 17–45. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA & Wilmut I (1996) Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 380, 64–66.

Dietl J (ed) (1989) The Mammalian Egg Coat: Structure and Function. Berlin: Springer-Verlag.

Goodenough DA, Simon AM & Paul DL (1999) Gap junctional intercellular communication in the mouse ovarian follicle. *Novartis Found. Symp.* 219, 226–235; discussion 235–240.

Gosden R, Krapez J & Briggs D (1997) Growth and development of the mammalian oocyte. *Bioessays* 19, 875–882.

Sathananthan AH (1997) Ultrastructure of the human egg. *Hum. Cell* 10, 21–38.

Solter D (1996) Lambing by nuclear transfer. *Nature* 380, 24–25.

Spradling AC, de Cuevas M, Drummond-Barbosa D et al. (1997) The *Drosophila* germarium: stem cells, germ line cysts, and oocytes. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 62, 25–34.

Sperm

Clermont Y (1972) Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.* 52, 198–236.

Fawcett DW & Bedford JM (eds) (1979) The Spermatozoon. Baltimore: Urban & Schwarzenberg.

Metz CB & Monroy A (eds) (1985) Biology of Fertilization Vol 2, Biology of the Sperm. Orlando, FL: Academic Press.

Ward WS & Coffey DS (1991) DNA packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. *Biol. Reprod.* 44, 569–574.

Fertilization

Chen MS, Tung KS, Coonrod SA et al. (1999) Role of the integrin-associated protein CD9 in binding between sperm ADAM 2 and the egg integrin $\alpha 6\beta 1$: implications for murine fertilization. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 96, 11830–11835.

Cho C, O'Dell Bunch D, Faure J-E et al. (1998) Fertilization defects in sperm from mice lacking fertilin β. *Science* 281, 1857–1859.

Longo FJ (1997) Fertilization, 2nd edn. Cheltenham, UK: Nelson Thornes.

McLeskey SB, Dowds C, Carballada R et al. (1998) Molecules involved in mammalian sperm–egg interaction. *Int. Rev. Cytol.* 177, 57–113.

Myles DG & Primakoff P (1997) Why did the sperm cross the cumulus? To get to the oocyte. Functions of the sperm surface proteins PH-20 and fertilin in arriving at, and fusing with, the egg. *Biol. Reprod.* 56, 320–327.

Snell WJ & White JM (1996) The molecules of mammalian fertilization. *Cell* 85, 629–637.

Vacquier VD (1998) Evolution of gamete recognition proteins. *Science* 281, 1995–1998.

Wassarman PM (1999) Mammalian fertilization: molecular aspects of gamete adhesion, exocytosis, and fusion. *Cell* 96, 175–183.

Wassarman PM, Jovine L & Litscher ES (2001) A profile of fertilization in mammals. *Nat. Cell Biol.* 3, E59–E64.

21　多细胞生物的发育

动物发育的通用机制
线虫：通过单个细胞来研究发育
果蝇身体图案形成的分子遗传学机制
同源选择基因和前后轴的图案形成
器官发生和附肢形成
细胞运动和脊椎动物体型的形成
小鼠
神经的发育
植物发育

动物和植物都是由单个受精卵开始发育的。在发育中，细胞分裂产生许多不同的细胞，这些细胞再组合形成复杂而精确的发育图案。我们已经知道基因组决定发育图案，发育生物学就是研究基因组怎样影响发育图案的。

所有细胞的基因组都是一样的。细胞的不同并不是因为它们的遗传信息不同，而是它们表达的基因不同。基因的选择性表达控制了四个影响发育的主要过程：①细胞增殖——产生更多的细胞；②细胞分化——不同细胞在不同位置具有不同特征；③细胞间相互作用——影响细胞和周围细胞间的行为协调；④细胞运动——细胞形成有一定结构的组织和器官（图 21-1）。

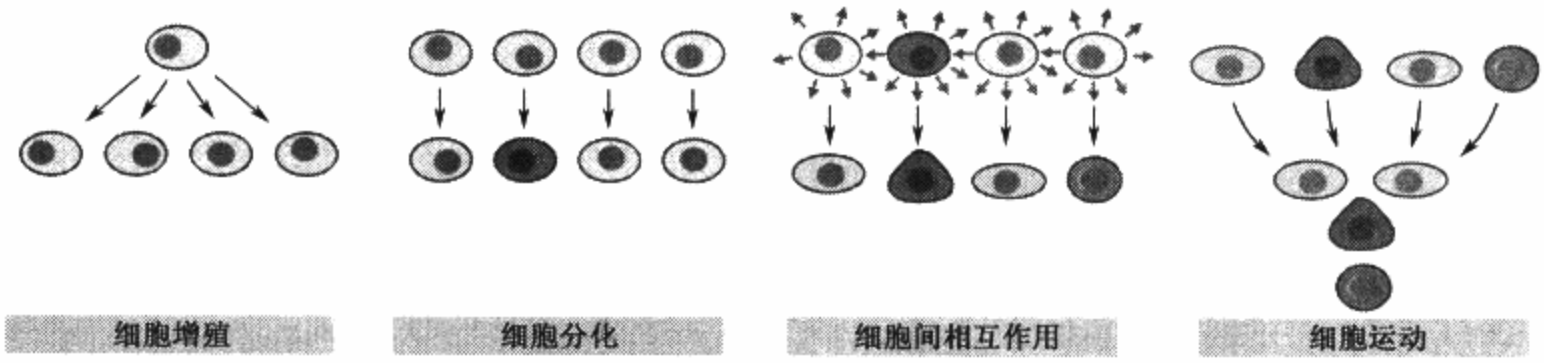


图 21-1　多细胞动物的 4 个重要细胞活动：细胞增殖、细胞分化、细胞相互作用、细胞运动

在胚胎发育中，这些过程都是同时发生的。为了了解发育的基本原理，我们将目光缩小。我们首先要了解单个细胞的活动过程及其基因组的作用。细胞发育并不完全一样，胚胎中每个细胞都可以根据自己的遗传信息和周围环境来决定自己的命运。

动植物的复杂性主要依赖于遗传调控系统。细胞具有记忆性：细胞表达什么基因和细胞行为依赖于细胞以前和现在所处的环境。体内的各种细胞——肌肉细胞、神经细胞、表皮细胞、肠道细胞等都有它们自己的特点。细胞不仅受周围细胞信号影响，而且还受其前体细胞在早期胚胎发育期接受信号的影响。第 7 章中我们将介绍细胞基因记忆性的分子机制。本章我们将介绍记忆性的重要作用。

动物发育的通用机制

现有的数以百万计的动物都各不相同。我们认为它们有着完全不同的发育机制。就和人

们不会想到我们用相同的方法制造鞋子和飞机一样，我们很难理解线虫、跳蚤、鹰、鱿鱼按照同样的发育机制发育。虽然不是完全一样的特异性分子，但它们共享了一些简单的原理。

在过去 20 年的研究中，我们发现起初的想法是错误的。发育中许多基本的机制不仅在脊椎动物中是一致的，而且在无脊椎动物中也高度保守。进化保守的分子决定了特定的细胞类型，标记身体不同区域的区别，并建立了身体图案。不同物种的同源蛋白质在功能上可以相互替代。在小鼠中表达的果蝇蛋白具有在果蝇中相同的功能。如 vice versa 就可以控制眼的发育和大脑的结构（图 21-2）。发育生物学家正用它们自己的方式来了解动物发育的机制。

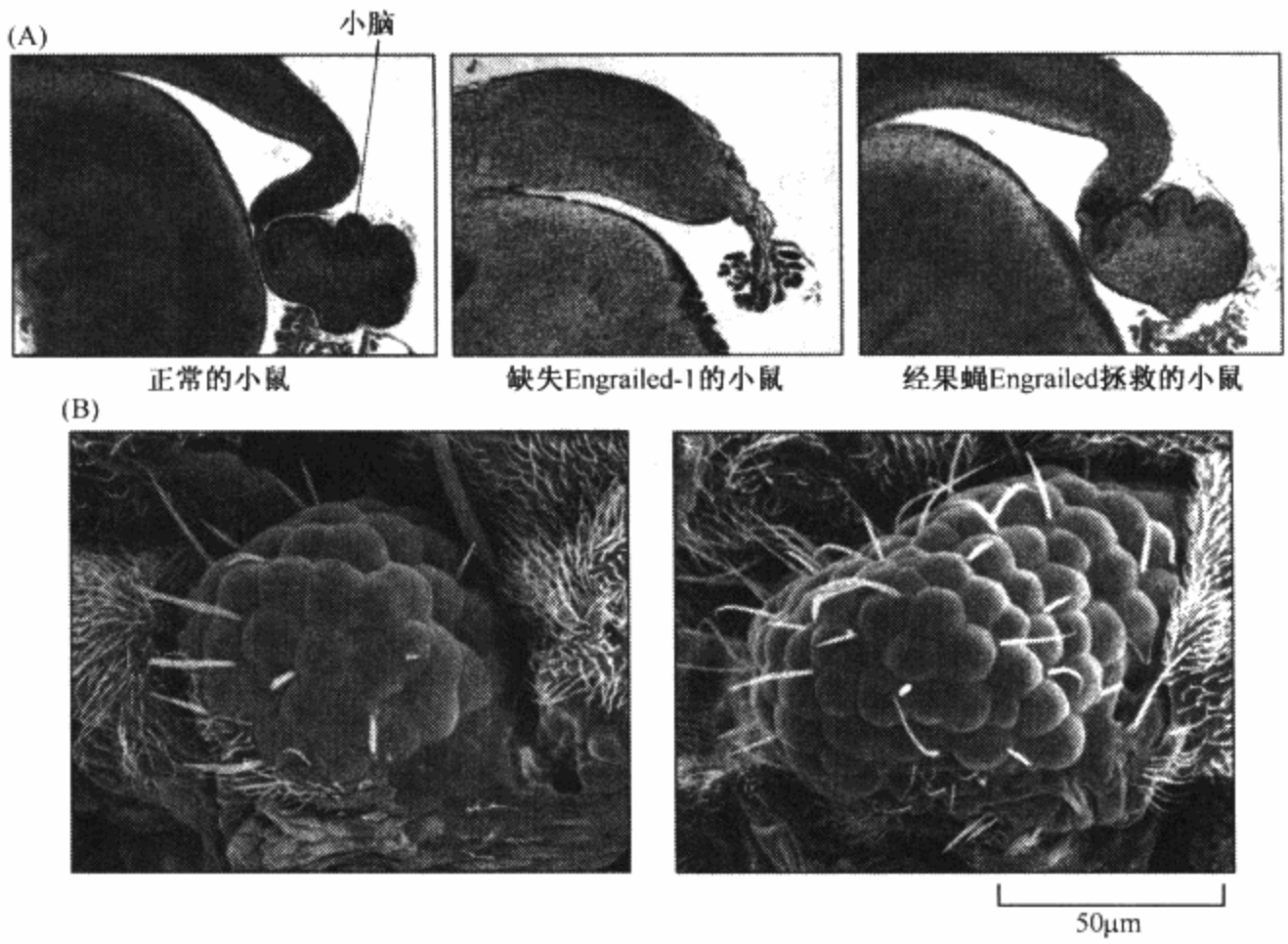


图 21-2　在小鼠和果蝇的发育过程中同源蛋白的功能可相互替换

（A）小鼠中用果蝇蛋白。果蝇中编码 Engrailed 的 DNA 序列可以替代小鼠中编码 Engrailed-1 的 DNA 序列。小鼠中 Engrailed-1 的缺失导致大脑发育的缺陷；果蝇的蛋白质可以很好地替代小鼠中蛋白质来拯救转基因小鼠。（B）在果蝇中使用软体动物的蛋白质。Eyeless 蛋白控制了果蝇眼睛的发育，异位表达可以在其他身体部位生长出眼睛，如腿上。小鼠的同源蛋白 Pax-6 被异位表达后也能引起同样的作用。电镜扫描突变显示了异位表达果蝇 Eyeless 基因和小鼠 Pax-6 基因的眼部组织

植物与动物不同，它们具有与动物完全不同的发育机制。动物发育是本章的重点，植物发育将在最后部分介绍

我们将首先介绍动物发育中的一些基本机制，并主要介绍发育学家常用的 7 种模式动物。

动物具有相同的基本解剖学特征

不同物种控制发育基因的相似性暗示动物可能是从具有这些基因的共同祖先进化而来的。虽然我们不知道这个祖先是什么样子，但我们知道线虫、软体动物、昆虫、脊椎动物和其他的动物的祖先肯定有许多分化的细胞类型：上皮细胞形成外部的保护层，肠道细胞可以从食物中吸收营养，肌肉细胞可以运动，神经细胞和感觉细胞可以控制运动。身体最外面有一层皮肤包被，有可以进食的嘴，可以容纳和消化食物的肠道，在皮肤和肠道间是有序排列的肌肉、神经和其他组织。

这些特征普遍存在于各个物种中，并组成了发育的基本解剖学图案。储存有大量营养物质的卵细胞分裂成许多小的细胞。它们相互连接组成了包被在外面的表皮。这些细胞大部分都留在外表面，形成外胚层和神经系统。一部分细胞内陷并形成**内胚层**——肠道和肺、肝等内脏的前体。一部分细胞移动到**外胚层**和内胚层间的空隙形成**中胚层**——肌肉、连接组织和其他器官的前体。这个从一个简单的或者一个内空的球状细胞体向具有肠道的结构的改变就被称为**原肠胚发育**。这一过程是动物发育的通用特征。图 21-3 显示了海胆中的原肠胚发育过程。

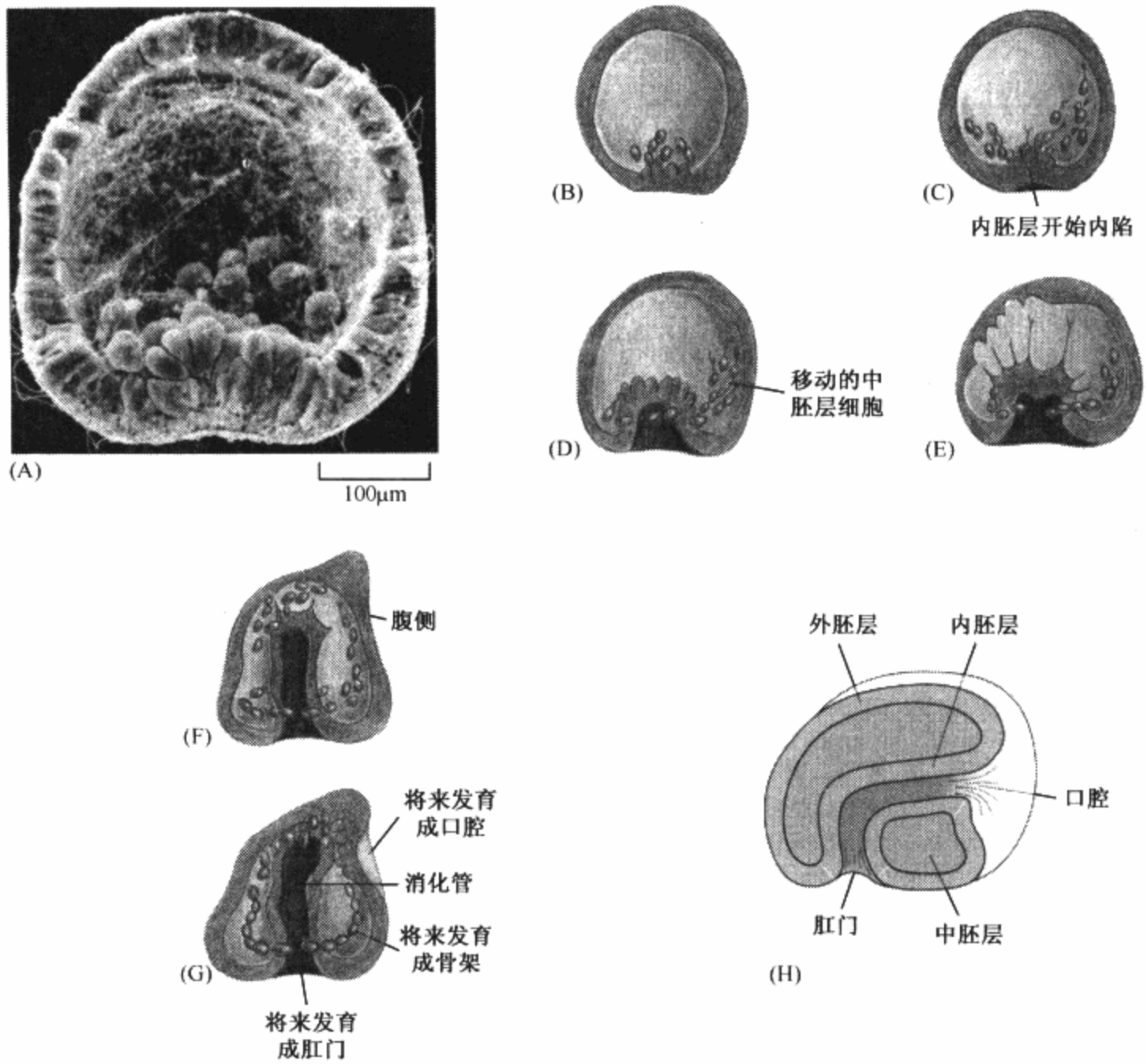


图 21-3　海胆原肠胚发育

受精卵分裂产生囊胚——一层球状的上皮细胞包裹一个空腔。在原肠胚发育过程中，一些细胞向内卷曲形成了肠道和内部组织。（A）电镜扫描显示最初的上皮细胞内卷。（B）图示一些细胞怎样脱离上皮而形成中胚层。（C）这些细胞沿着囊胚的内表面进行迁移。（D）同时，上皮继续内陷形成了内胚层。（E）、（F）内胚层延伸形成肠道。（G）肠道末端在未来开口处与囊胚相连。在此处内胚层和中胚层聚合并形成了一个洞。（H）具有表皮外胚层、管状内胚层和中胚层的动物基本身体图案

进化增加了基本分子原理和解剖学原理的多样性，并创造出了现有的这么多种生物。但是最基本的基因和机制高度保守性告诉我们，研究某个动物的发育过程往往能够发现其他物种发育的普遍规律。所以，现在发育生物学家和细胞生物学家往往通过最简单的研究来找到基本问题的答案。

多细胞动物调控细胞间相互作用和基因调控蛋白的保守性

基因组测序揭示了不同物种间的分子相似性。线虫、果蝇和人是三个最先获得基因组全

序列的物种。这三个物种在进化树上距离很远，脊椎动物的祖先和线虫和软体动物祖先至少是在 6 亿年前分开的。但比对线虫的 19 000 个基因、果蝇的 14 000 个基因和人的 30 000 个基因发现，在每个物种中至少有 50%的基因能在其他一个或两个物种中找到明显的同源基因。也就是说，至少有 50%的基因存在于线虫、果蝇和人的共同祖先中。

当然，并不是所有的基因都保守。脊椎动物发育中的一些关键基因在线虫和果蝇中都没有同源物。然而那些没有同源物的 50%的基因，其功能都不很重要。虽然这些不保守基因都被转录并存在于 cDNA 文库中，通过对它们的 DNA 序列和蛋白质序列变化的分析说明，这些基因即使没有严重的外界刺激也能引起突变。正由于它们进化得很快，在几百万年的时间里就足够失去它们的家族共同性甚至从基因组中丢失。

正如第一章中说所，不同类的动物基因组也有很大差别，有许多基因复制现象。在脊椎动物的进化中有很多基因复制现象，那些在线虫和果蝇中的单个基因在哺乳动物的和鱼类中有多个重复。

尽管物种间有这么多的差别，但它们调控关键功能的蛋白质组织还是一致的。也就是说，它们用同样的分子来构造身体结构。

除了那些单细胞动物中的基因外，哪些基因是构成多细胞动物所必需的呢？通过与酵母基因组的比对发现，有两类蛋白质对多细胞动物是必需的。一类是构成细胞间联结和传导信号的跨膜蛋白质。线虫中有大约 2000 个基因编码细胞表面受体、细胞连接分子和离子通道蛋白，这些基因在酵母中都没有或数量很少。第二类是基因表达调控分子。线虫中的这些 DNA 结合蛋白明显比酵母中多。例如，螺旋-环-螺旋家族在线虫中有 41 个成员，果蝇中有 84 个成员，人中有 131 个成员，但在酵母中只有 7 个成员。其他的基因表达调控基因相对酵母中也有很大增加。我们知道细胞-细胞间相互作用和基因表达调控对多细胞动物发育是相当关键的，那么我们就不难理解为什么这两类蛋白质是发育的关键了。

调控 DNA 序列决定了发育程序

当最初发现不同物种间基因的相似性时，这一点让发育生物学家很难理解。蠕虫、昆虫、软体动物和哺乳动物都有许多一样的重要细胞类型，它们都有一张嘴、一个肠道、神经系统和皮肤，除了这些最基本的特征，它们的外形结构相差很大。如果是基因组决定了身体结构，那么为什么基因组相似的动物却有着如此大的身体结构差异呢？

基因组编码的所有蛋白质可以被看作是一个结构工具箱内的成分。用工具箱可以构造许多东西，例如，小孩的工具箱可以通过不同组合方式来制造小车、房子、桥、起重机等。某些成分需要在一起——螺丝和螺母，车轮和轮胎车轴总是在一起，但物品最终并不是由这些东西来决定的，而是由这些成分的组装方式来决定的。

构造一个多细胞生物需要的指令就包含在了每个基因的非编码序列即调控序列上。正如第 4 章中所说的，多细胞动物的每个基因又含有几千到几万个核苷酸序列的非编码 DNA 序列。这些序列可能含有许多独立的调控单元或增强子——可以结合调控基因表达的特异性蛋白质复合物的 DNA 序列。第 7 章中也说到，当细胞内合成调控基因表达的蛋白质复合物结合到特定的 DNA 序列后，就可以调控基因的表达（有时是对基因调控的抑制或更加复杂的作用）。如果我们了解了所有的调控单元，那么我们就可以知道在不同条件下基因将产生不同的产物。可以说，这些调控序列编码了发育的程序：在细胞增殖和通过参照环境了解细胞所处位置时，细胞由一个状态转变到另一状态的规则，以及通过现有蛋白质的活化调控一组新基因的表达（图 21-4）。

比较具有相似身体图案的不同物种，如脊椎动物的鱼类、鸟类和哺乳动物，我们发现对

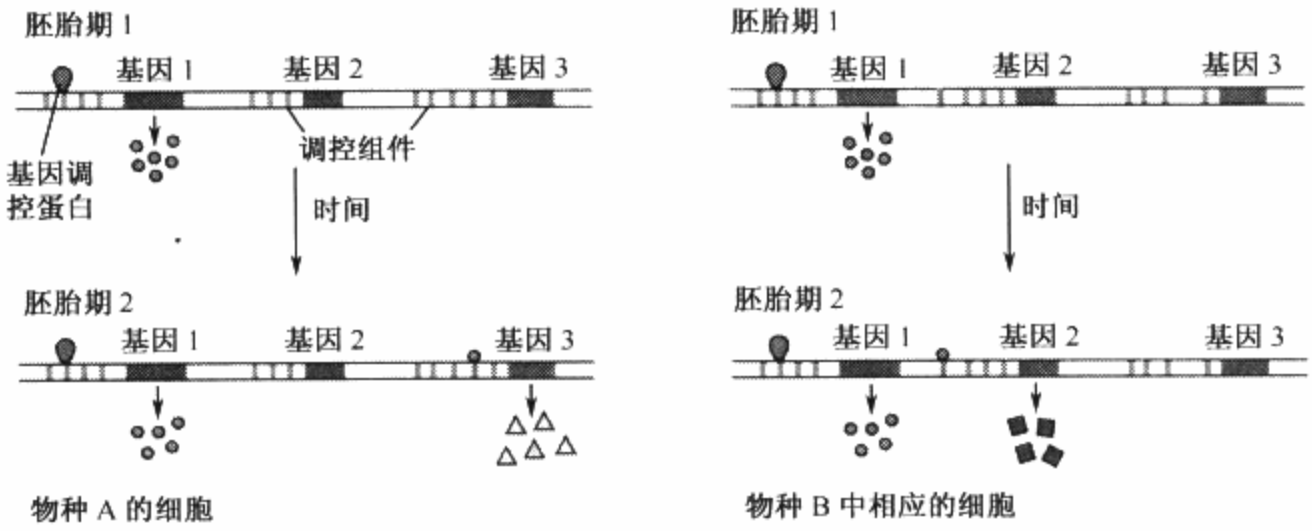


图 21-4　调控 DNA 序列是怎样决定发育中基因表达图案的

A 物种和 B 物种的基因组编码了相同的蛋白质却有不同的 DNA 调控序列。图中的两个细胞在 stage 1 中具有相同的状态。但由于不同的调控模块排列方式，两者在 stage 2 中状态就很不相同了

应的基因通常含有相似的调控模块：在不同物种中，许多调控模块的 DNA 序列都是保守的，具有很高的同源性。当我们比较蠕虫的不同种或昆虫的不同种时，结论也类似。但当我们用脊椎动物的调控序列与线虫或果蝇相比时就很难发现这样的相似性。蛋白质编码序列非常相似，但表达调控序列却很不相同。这也就是说，不同动物的身体图案差异是由调控 DNA 序列的差异造成的，虽然大部分蛋白质是不变的。

胚胎学研究揭示了细胞间相互作用机制

成体动物都是很复杂的，那么我们怎样了解那些复杂的发育过程呢？最重要的一个方面就是描述解剖学的变化（细胞分裂、生长和运动的图案变化）。这些过程使得受精卵成为了一个成熟的个体。这就是描述胚胎学的主要工作，而且这往往比我们想像的都难。为了通过细胞行为来解释发育，我们需要对在胚胎中发生分裂、转化和迁移的细胞进行标记。我们早在 19 世纪初就完成了描述胚胎学的基础工作，但细胞标记跟踪技术仍然困扰着发育生物学家（图 21-5）。

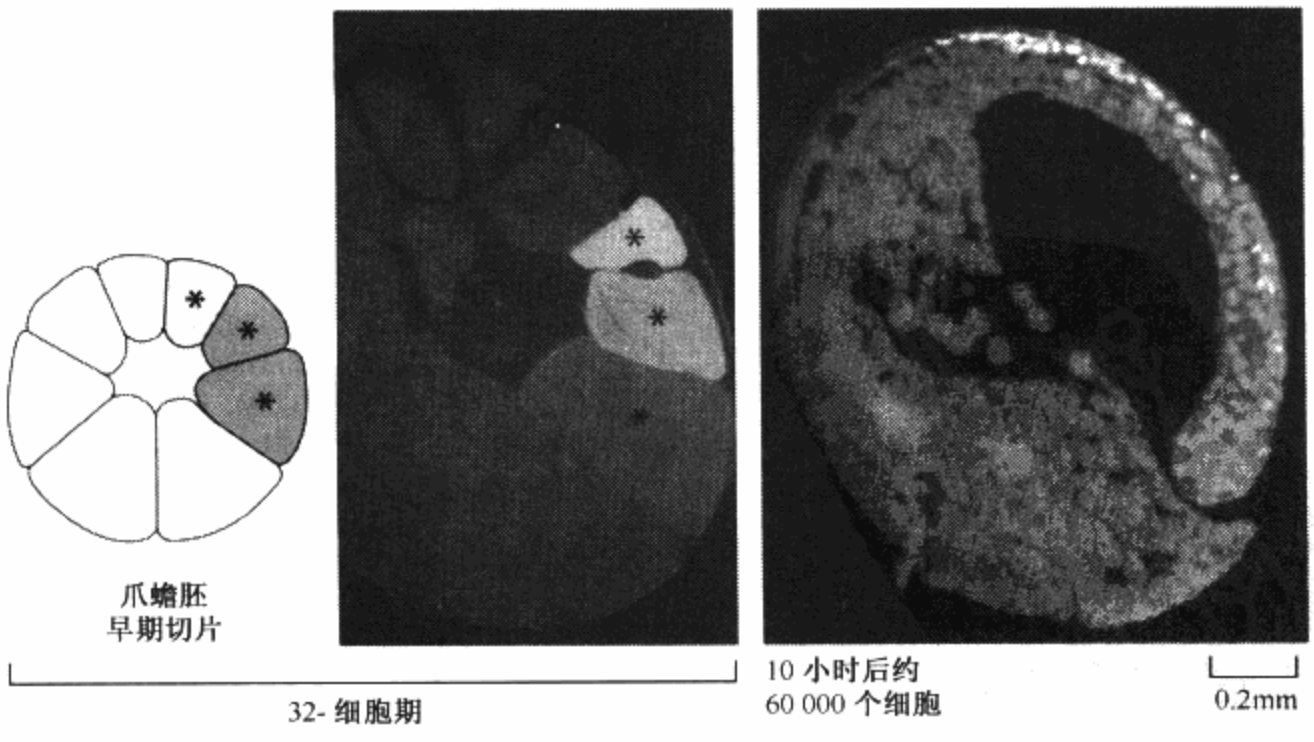


图 21-5　爪蟾胚胎的细胞标记实验

发育早期，在 3 个不同细胞中注射了不同的荧光染料，发育 10h 后，胚胎被固定并横切。荧光标记的图案显示了这 3 个细胞的后代细胞是怎样移动的

在有了具体描述后，我们怎样才能发现其中的因果机制呢？通常，实验胚胎学家往往通过研究细胞和组织是怎样相互联系形成多细胞结构来了解发育。同时，果蝇遗传学家则通过研究基因的作用来分析发育。这两种方法互补，构成了我们目前对发育的了解。

在实验胚胎学中，为了研究细胞和组织间是怎样相互作用的，我们需要将正在发育的动物的细胞和组织移除、重排、移植或隔离生长。结果往往是令人吃惊的。例如，将早期胚胎分为两半，两部分都会产生一个完整的个体。被移植到新位点的一小块组织也能够识别出发育个体的整体结构（图 21-6）。通过对这些现象的扩展和总结，我们可以了解细胞-细胞间的相互关系和细胞行为的规则。这些实验往往是在那些便于显微操作的大型动物胚胎上进行的。所以最常用的动物就是鸟类的鸡和两栖类的非洲爪蟾。

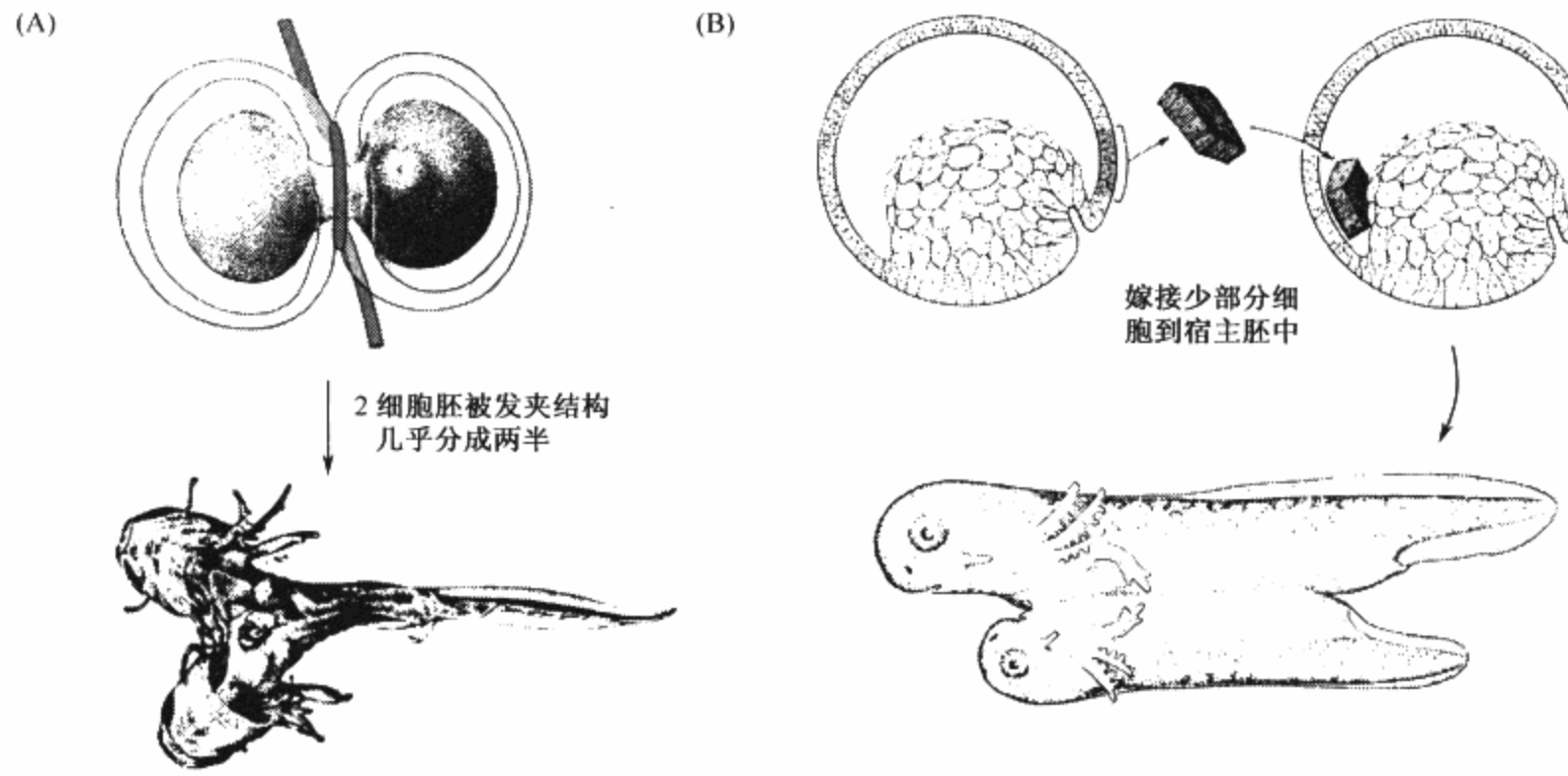


图 21-6　通过实验胚胎学获得的一些显著成果

在（A）中，早期的爪蟾胚胎被头发分为两个部分。在（B）中，一个胚胎在发育较后的某个时期接受了另一个同时期胚胎的一簇细胞。这两个完全不同的操作都可以使一个胚胎变为相同的两个胚胎。在实验（A）中，还可以将胚胎完全分离，这样就会产生两个完全独立的蝌蚪

通过突变寻找控制发育过程的基因

发育遗传学是由分离那些发育不正常的突变体动物开始的。经典的方法是第 8 章中所述的遗传筛选。亲本动物被化学诱变剂或射线处理导致它们生殖细胞的突变，并大量检测它们的后代。这些突变体都有许多有趣的发育不正常表型，如眼睛发育的改变。这一方法可以找到那些某一特征正常发育中需要的基因。通过对所发现基因的克隆和测序，就能鉴定它的蛋白质产物，研究它怎样作用，并研究那些调控它表达的调控 DNA 序列。

遗传学方法对于那些可在实验室喂养并且生活周期短的动物来说是最简单的方法。最先用这一方法的是果蝇，同时这一方法也被用到了线虫、斑马鱼和小鼠的研究中。虽然人不能被诱变，但通过医护系统我们筛选了大量的非正常个体。在人类生活中就有许多有突变的非正常个体。这些突变个体和它们的细胞就为发育的研究提供了重要的材料。

细胞命运决定早于细胞变化

通过跟踪染料或其他细胞标记技术，我们可以直接观察到胚胎正常发育时单个**细胞的命运**。细胞可能死亡、可能成为神经细胞、形成器官的一部分，或产生遍布全身的后代细胞。了解细胞命运就是要了解细胞的内在特征。例如，一方面，一个将要发育为神经的细胞就已经被保证无论其细胞周围环境如何改变都将会变成神经细胞。这样，一个细胞的命运就**被决定**了。而另一方面，某类细胞与具有其他命运的细胞在生化上是一致的，只是细胞所处的位置不同，位置不同使细胞将来所受影响不同。

细胞状态可以通过细胞移植改变其环境的方法来研究（图 21-7）。实验胚胎学的主要结论是：由于细胞的记忆性，在表现出明显的分化特征前，细胞命运就已经被决定了。

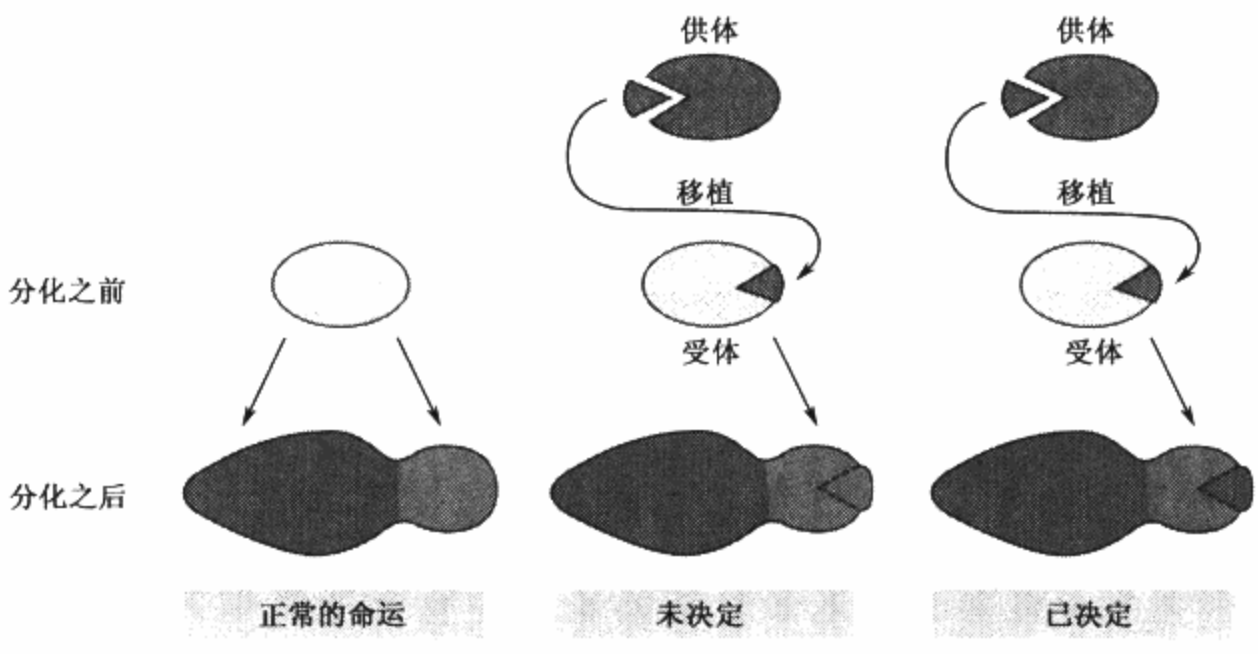


图 21-7　细胞命运决定的标准测试

在命运完全决定和命运完全未决定之间，细胞命运有很多可能性。例如，细胞可能刚刚开始向其正常命运分化，并具有强烈的趋势向这一方向分化，但如果把这一细胞放在一个足够强烈的环境中，它仍有可能像其他的方向分化。一些发育生物学家把这一现象描述为细胞具有了特异性，但其命运没有被决定或如命运被决定的脑细胞是发育为神经细胞还是神经胶质细胞并没有决定。并且，通常相互连接的同类型细胞相互作用并依赖于共同支持物来维护它们的特异性。所以当它们相互聚集在一起的时候，它们保持各自特征，但当某个细胞脱离就会失去原有命运。

细胞位置的记忆性影响它们在体内的定位

在许多系统中，细胞在分化为特定细胞类型前很久就被区域性决定：它们转变并维持那些标志体内的位置或区域的基因的表达。细胞的这个位置特异性特征就是细胞的**位置值**，它决定了在随后图案形成步骤中细胞行为的影响。

鸡的腿和翅膀的发育为研究这个问题提供了很好的模型。成体的腿和翅都由肌肉、骨、皮肤等构成，甚至不同组织的区域也相同。这两个不同的附肢具有相同类型的组织，但这些组织的空间排列却很不相同。那么，这些不同是怎样形成的呢？

在鸡的胚胎中，腿和翅是同时从侧腹部以舌状芽的方式开始形成的。起初，这两个附肢的芽非常相似并且没有分化。但一个简单的实验证实这一相似性具有欺骗性。腿芽底部的一

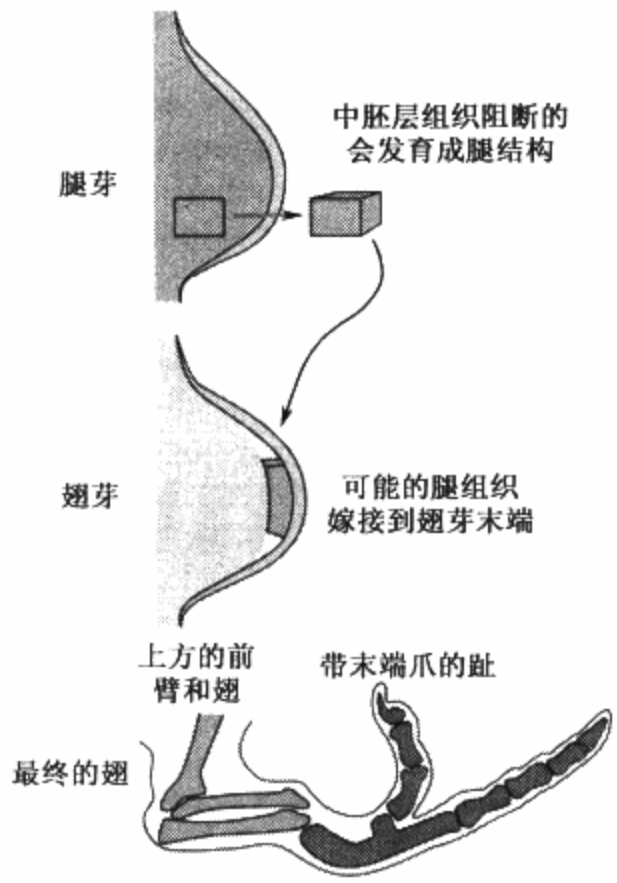


图 21-8　原本发育为大腿的组织在移植到鸡翅芽后形成了趾

小块将来发育为大腿的未分化组织，可以被切下并连接到翅芽的顶部。奇怪的是，这块组织并不发育为翅的顶部，也不发育为大腿组织，而是会变成趾（图21-8）。这一实验显示，早期的腿芽细胞已经被决定发育成为腿的结构，但并没有被决定是发育为腿的哪部分特定结构，它的发育仍要依赖于翅芽的信号，所以它发育成为附肢顶部结构而不是底部结构。不论在腿还是翅，控制附肢每个特定部分发育的信号都是相同的，两类附肢的不同在于发育早期各自细胞内部状态的不同。

脊椎动物附肢前部细胞核后部细胞位置值的不同反映了一类 *T-box* 基因调控蛋白表达的不同。附肢后部细胞表达 *Tbx 4* 基因，而附肢前部细胞表达 *Tbx 5* 基因，这两个基因控制了随后的发育（图 21-9）。本章随后将讲到，每个附肢芽内的详细图案是怎样形成的。

通过不对称分裂产生两个不同的子代细胞

在发育的每个时期，胚胎内的每个细胞根据其状态的不同仅仅具有特定的选项：细胞沿着哪些重复分支的发育路径运动。在路径的每个分支处它都要作出选择，它的选择决定了它的最终命运。通过这一方式，就产生了一系列不同的细胞类型。

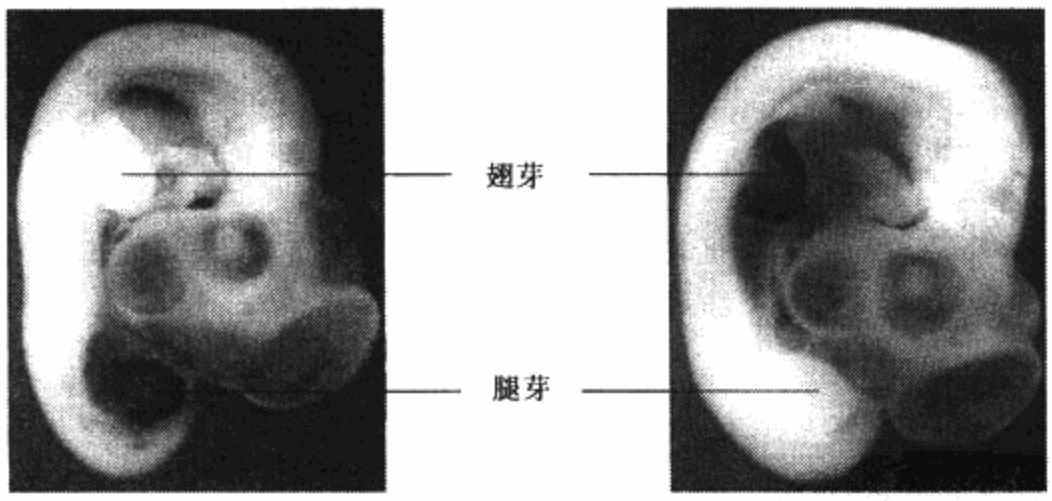


图 21-9　图示为 4d 鸡胚，通过原位杂交显示 *Tbx4* 和 *Tbx5* 基因表达

表示 *Tbx5* 的细胞将发育成翅，而表达 *Tbx4* 的细胞则发育为腿。*Tbx4* 和 *Tbx5* 编码与肢体类型的发育相关的基因调节蛋白

为了了解发育，我们就需要了解选项间的每个选择是怎样被控制的，依赖于选择的这些选项是怎样被精确制定的。我们将问题最简化就是：具有相同基因组的两个细胞是怎样开始分化的?

当一个细胞开始有丝分裂，两个子代细胞都具有完全相同的基因组。然而，这两个子代细胞却具有不同的命运，那就是说，它们或者它们的后代细胞获得了不同的特征。

在某些情况下，经过**不对称分裂**产生了两个不同的子代细胞，在分裂时，某些重要的信号分子不均匀的分配到了两个细胞中。这些不对称的隔离分子作为决定素，通过直接或间接

改变其所在细胞的基因表达来决定细胞的命运（图 21-10）。

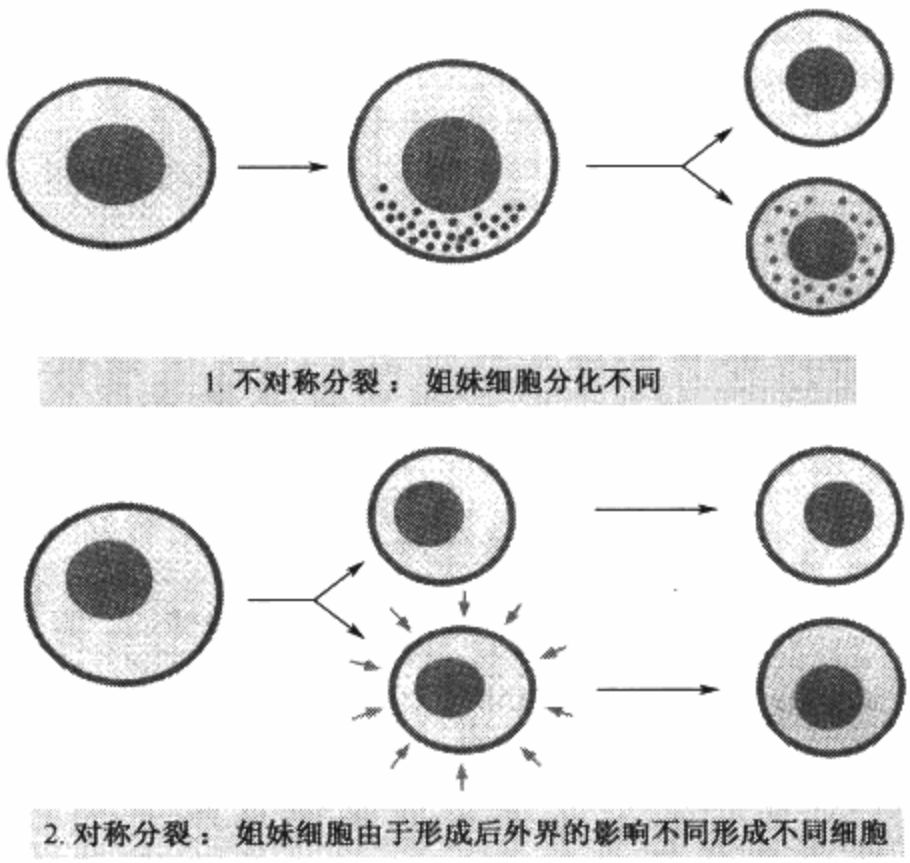


图 21-10　形成不同子代细胞的两种方法

不对称分列在发育早期是普遍存在的，例如，受精卵分裂为两个不同命运的子代细胞。同时，在发育的晚期也存在，如神经元细胞的产生。

可诱导的相互作用可以使最初完全一致的细胞产生分化

但目前为止，促使细胞分化的最通用的方法就是将细胞暴露在不同的环境中，对胚胎中细胞影响最大的环境因素就是周围细胞的信号。在某些情况下，邻近的相似细胞相互交换信号促使它们分化。通过相互竞争，某个或某组细胞胜出——不仅向特定的方向分化，而且向周围细胞分泌信号阻止它们以同样的方式分化，这一现象就是侧向抑制（图 21-11）。通常这一过程依赖于细胞间 Notch 信号的交换。

另一种可能应用更广的策略是，一组细胞最初都具有同样的发育潜力，这些细胞外的某个信号促使这些细胞内的某个或某些细胞向不同的发育方向分化，具有了不同的特征。

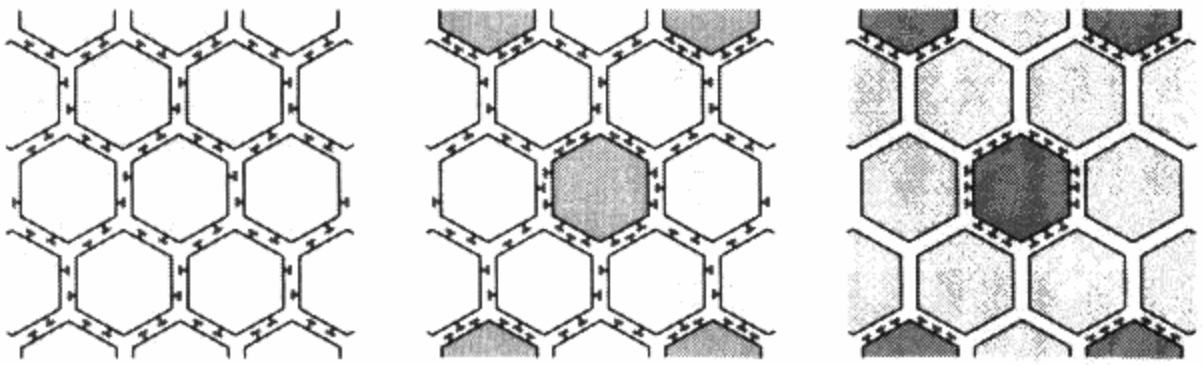


图 21-11　侧向抑制与细胞多样性

相邻的细胞通过相互发送抑制信号来竞争具有主导特征。首先，所有的细胞都是相同的。在竞争中占优势的细胞对周围细胞发送强烈的抑制信号，来阻止周围细胞反向发送抑制信号。这种作用是自我加强的，促使某些细胞占有了主导地位，并由周围被抑制的具有其他分化特征的细胞包围

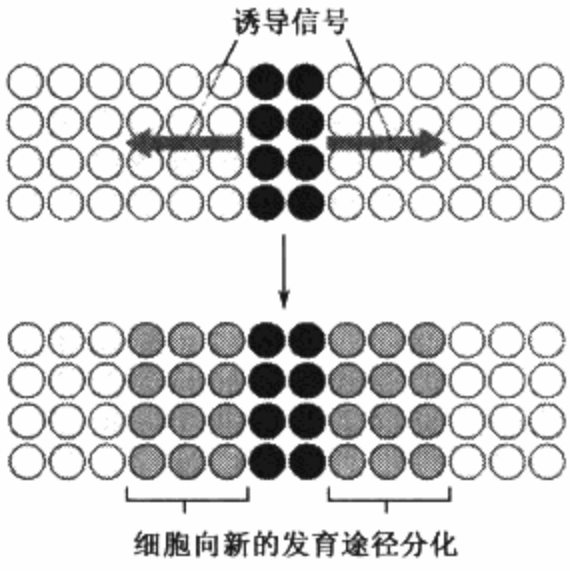


图 21-12　诱导信号

这一过程被称为**可诱导相互作用**。一般情况下，这一信号仅仅局限在某些时间和空间内，所以只有某一部分细胞，即那些最接近信号源的，才能都获得诱导的特征（图 21-12）。

某些诱导信号是短距离的，它们通过细胞-细胞作用传递。另外一些是长距离的，通过那些在细胞外基质中弥散的信号分子来调控。对这些信号产生响应的细胞就被称为等价组或形态发生区。它可以是两个细胞，也可以是多达几千个细胞，有多少细胞能够被诱导依赖于信号的数量和贡献。

理论上说，任何一种信号分子都可以是诱导素。但实际上，大部分已知的在动物发育中起作用的诱导素是一些高度保守的信号蛋白，它们在不同的地方被反复利用。在过去的一二十年中发现的这些在发育通信中起重要作用的信号是发育生物学史上最伟大的简化发现。在表 21-1 中，我们列举了 5 类重要的信号蛋白家族，它们在动物发育中被重复利用。这些分子作用的详细的细胞内机制将在第 15 章中讨论。

表 21-1　在动物发育中被多次重复使用的信号蛋白

信号途径	配体家族	受体家族	细胞外抑制子/调节子
酪氧酸激酶交体	EGF	EGF 受体	Argos
	FGF (Branchless)	FGF 受体（Breathless）	
	ephrins	Eph 受体	
TGFβ超家族	TGFβ	TGFβ受体	chordin (Sog), noggin
	BMP (Dpp)	BMP 受体	
	Nodal		
Wnt	Wnt (Wingless)	Frizzled	Dickkopf, Cerberus
Hedgehog	Hedgehog	Patched, Smoothened	
Notch	Delta	Notch	Fringe

注：此表只列出了每个蛋白家族的一小部分代表性成员，大部分都是本章涉及到的，果蝇中特有名称在括弧中标出，列出的蛋白有许多具有同源蛋白，以数字标识（FGF1、FGF2等）或以不同的名字(Sonic hedgehog, Lunatic fringe)。具体细节请参阅第15章。

诱导事件的最终结果是相应细胞内 DNA 转录的改变：某些基因被激活而另外的基因被抑制。不同的信号激活不同的基因调控蛋白。而且，某个基因调控蛋白在细胞中的作用还依赖于细胞内被激活的其他蛋白质，因为这些蛋白质通常协同作用。结果是，对相同信号不同响应产生了不同类型的细胞。这一响应同时依赖于接收信号前细胞内已经存在的基因调控蛋白和细胞即将受到的其他信号。

形态发生素是长距离诱导信号，能够产生多级作用

到目前为止，我们讨论的都是控制简单有无选择的信号分子：要么是有，要么是没有。在很多情况下，响应是分级的。例如，高浓度的信号促使细胞向一个方向分化，中浓度信号促使细胞向另一个方向分化，低浓度信号则促使细胞向第三个方向分化。一个重要的问题是，信号分子以什么方式从信号源分泌出去并建立了信号浓度梯度。距离信号源远近不同的细胞按照接收信号的不同向不同的方向分化。

通过这种方式影响一整个区域的信号就被称为**形态发生素（morphogen）**。脊椎动物的附

肢发育为研究这一问题提供了很好的例子：在胚胎附肢芽一侧的某些细胞可以分泌 Sonic hedgehog 蛋白——一个 hedhehog 家族信号分子成员，这个蛋白质从其源头向外扩散，形成了形态发生素浓度梯度来控制附肢芽上沿拇指到小指细胞的特征。如果在芽的另一侧也移植一团能产生信号的细胞，那么就可以产生镜像复制的趾图案（图 21-13）。

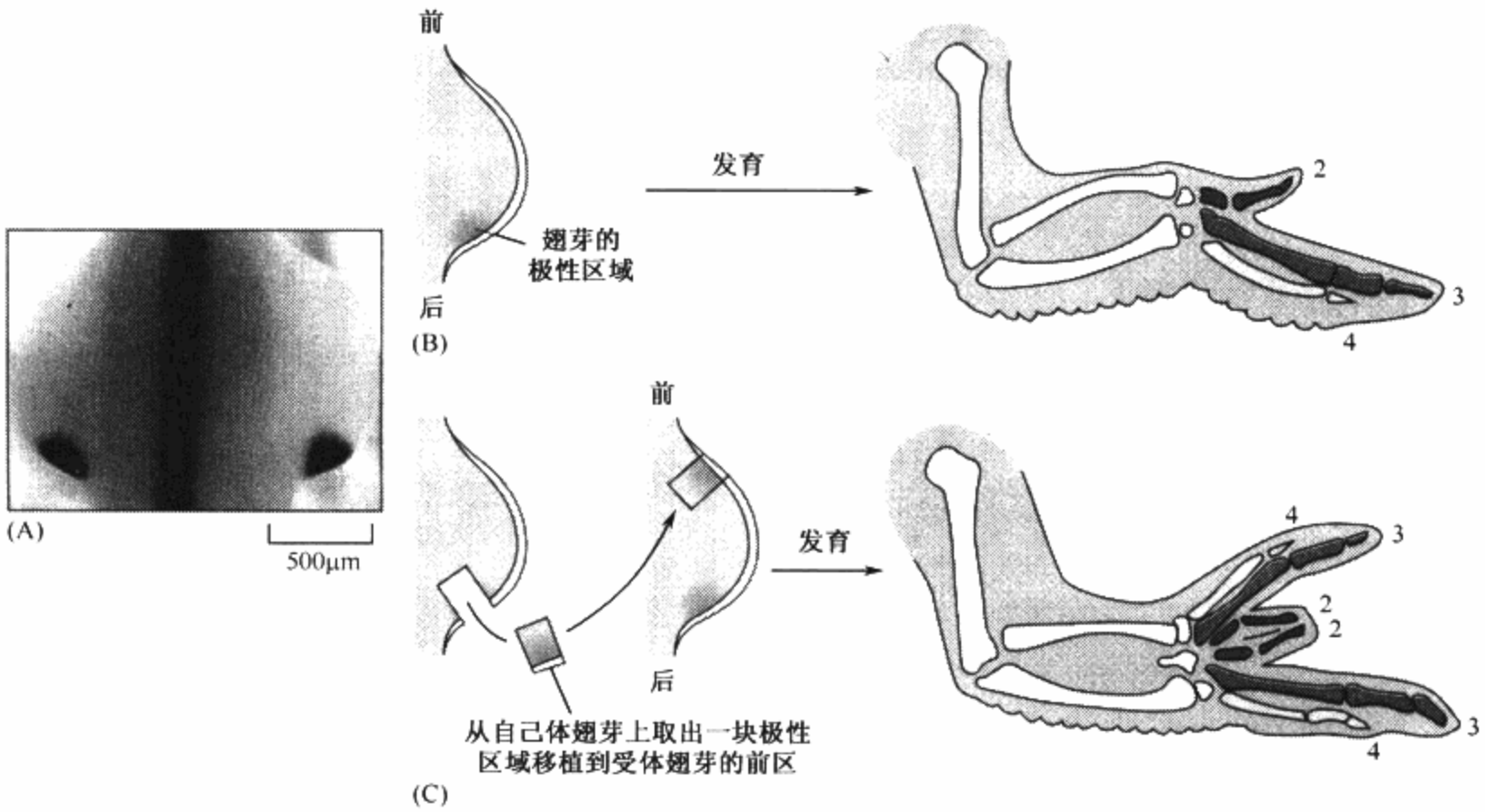


图 21-13　鸡附肢发育中的 Sonic hedgehog 形态发生素

（A）通过原位杂交显示的 4d 鸡胚中 Sonic hedgehog 基因的表达情况。基因表达在身体的中线和两个翅芽的后部边缘。Sonic hedgehog 蛋白由这些地方向外扩散。（B）正常的翅发育。（C）移植一块极性区域的组织导致了翅的镜像复制。趾的发育类型依赖于所处位置的 Sonic hedgehog 浓度，距离 SHH 信号源远近不同而发育为不同类型的趾

[（A）经 Randall S. Johnson and Robert D. Riddle 许可]

细胞外信号分子抑制物可以塑造细胞对诱导物的响应

由于信号分子可以在很远的地方行使功能，就和怎样产生信号一样，怎样去限制信号的作用范围也是很重要的。大部分发育信号蛋白有细胞外拮抗物来抑制它们的功能。这些拮抗物往往能够与信号分子或其受体结合来抑制两者间的相互作用。

奇怪的是，大部分发育决定都受到了抑制物调控而不是最初的信号分子。爪蟾胚胎的神经系统是由一些细胞产生的，它们不仅形成了神经组织，还形成了表皮组织。诱导组织分泌促进神经组织形成的 chordin 蛋白。chordin 蛋白没有自己的受体，它是 BMP/TGFβ 信号通路的抑制物，从而诱导表皮发育，并在神经元和表皮形成的神经外胚层区域表达。所以神经组织的诱导是拮抗信号的抑制浓度梯度造成的（图 21-14）。

细胞内在程序决定发育的时间程序

我们提到的这些信号在控制发育事件的时间顺序上有重要作用，但并不是说每一个发育变化都需要诱导信号。许多改变细胞特征的机制都是细胞内程序决定的而不是周围环境，即使在一个不变的环境中细胞也会进行发育。例如，小鼠脊索中神经前体细胞可以经过 11 次细

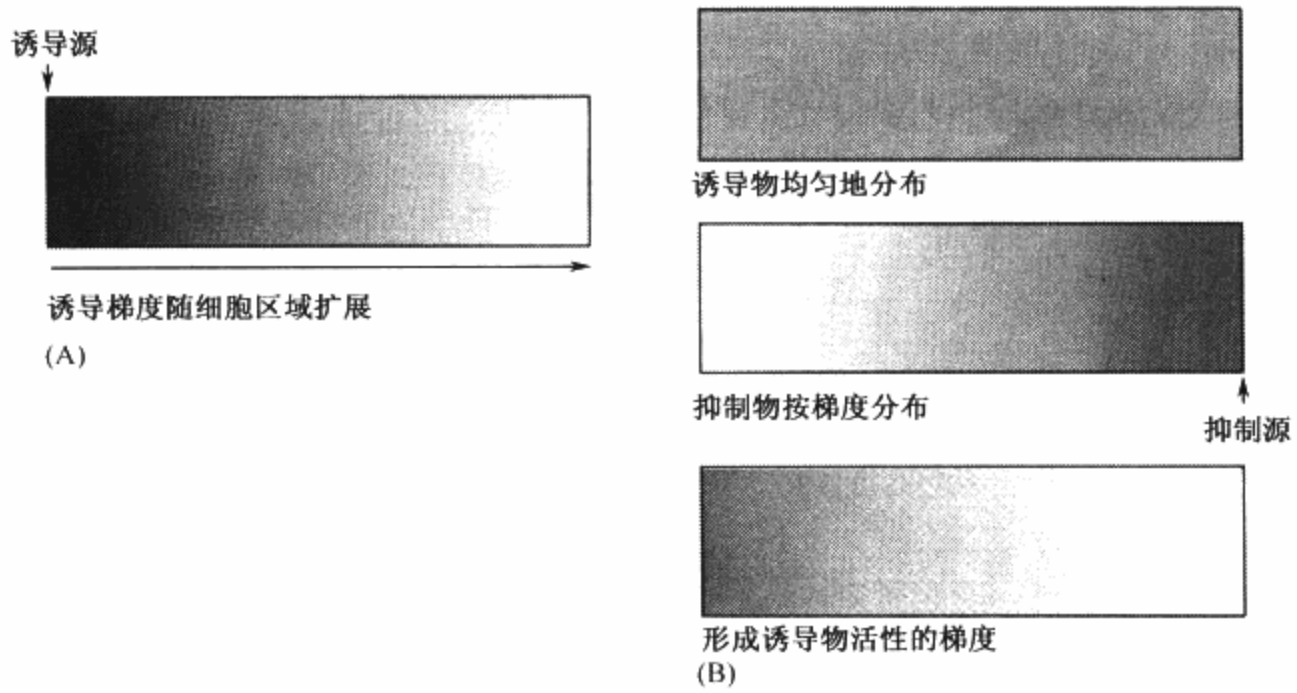


图 21-14　建立形态发生素浓度梯度的两种办法

（A）形态发生素从其发生源向外扩散。（B）抑制物向外扩散并阻止诱导物的作用

胞分裂产生神经元，而在大脑皮层中的前体细胞经过 23 次细胞分裂后停止。而且，同时在这一过程中产生了多种不同的神经元，这表明前体细胞在这一过程中改变了细胞特征，所以才产生了多种不同的后代细胞。

但我们很难证明在胚胎中这些事件是时间准确的细胞自主过程，因为细胞的环境在不断变化。然而，细胞培养实验却给了我们足够的证据。例如，神经胶质前体细胞被分离并在不变的培养基中培养，也同样会按照时间进行细胞增殖并向少突细胞分化，这一过程就如同它们在胚胎中一样。

最初的图案建立在一小块区域内并随着胚胎生长被顺序诱导

控制胚胎空间图案的信号只作用于较短距离并控制简单选择。例如，形态发生素仅仅作用于 1mm 内范围，并只控制少数细胞的选择。但实际上，器官却远比这要大且复杂。

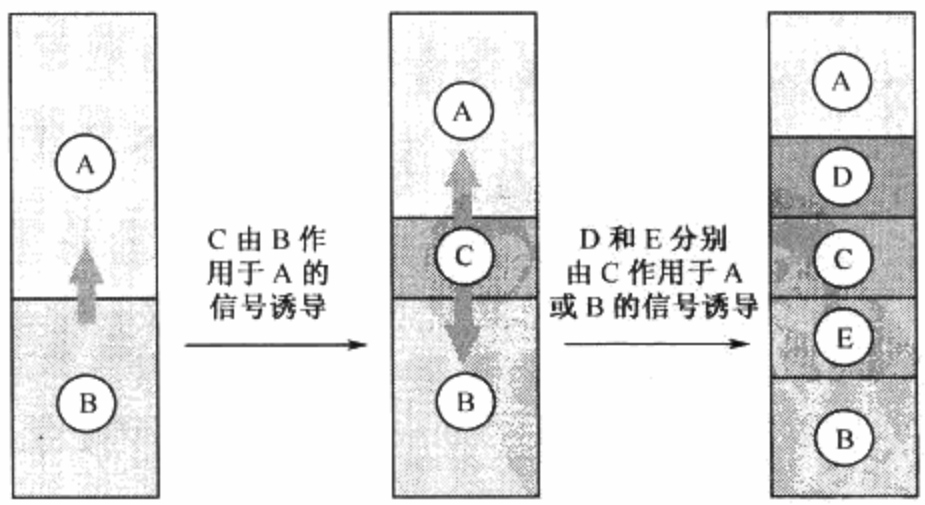


图 21-15　顺序诱导图案

一系列的顺序诱导相互作用可以由几种类型细胞产生多种类型细胞

这种产生更复杂图案的策略就是**顺序诱导（sequential induction）**。发育动物的身体图案正是通过顺序诱导产生更好更详细的身体图案。

在随后的部分中，我们主要集中介绍一些模式动物，正是通过这些动物，我们了解了发育的基本原理，我们首先从线虫开始。

小结

多细胞动物发育中明显的细胞行为变化依赖于细胞记忆的复杂分子计算的外部特征，这些分子计算在细胞接受并整合周围细胞的信号并反向发送回去。分化后细胞的最终图案是一个更加隐蔽的细胞分化程序的结果——基因调控蛋白表达图案的改变使细胞具有了不同的分化倾向。发育生物学家试图通过遗传学和显微技术来解释并这一隐蔽程序并将其与增殖、相互作用和运动中细胞的信号联系起来。

不同的动物，包括线虫、果蝇和人，都依靠一些相似的蛋白质来控制发育，我们在其中一种动物中发现的原理在其他动物中也存在。许多进化保守的细胞-细胞间信号通路在不同时间和不同位置被重复使用，来调控多细胞图案的建立。身体图案的不同正是由于每个基因的调控 DNA 不同造成的。这些 DNA 在决定发育程序中有重要作用，将基因在特定的时间和位置按照细胞在不同发育时期的不同基因表达图案调控基因的表达。

胚胎内细胞不同有很多方面。通过细胞不对称分裂可以产生两个不同的子代细胞。而两个生来相似的细胞也可以通过细胞间竞争性相互作用即侧向抑制进行分化。一组最初相似的细胞也可以通过接收不同的细胞外信号而有所不同，形态发生素的长距离浓度梯度效应可以组织更复杂的图案。通过细胞记忆性，瞬时信号可以对细胞内状态产生持续作用，可以决定细胞的特定命运。通过这些方式，细胞中在不同时间不同位置顺序表达的简单信号就产生了世间丰富多彩的多细胞生物。

线虫：通过单个细胞来研究发育

线虫是一种个体小、形态简单、构造精确的生物。其发育解剖学已经被详细描述，我们可以了解每个细胞的谱系命运。其全基因组序列已知，有大量的突变体可以研究基因功能。如果要选择一个多细胞动物来研究遗传学控制的话，线虫是首选。

但实际上却有很多阻碍研究的因素。虽然其结构简单，它有 18 000 个基因和超过 1000 个细胞，没有计算机我们不难跟踪这些基因和细胞。如果我们要研究那些线虫中没有的器官，如眼睛、附肢等的发育，线虫也不会是合适的模式动物。而且它不能做移植试验。DNA 序列比对也显示，线虫、果蝇和脊椎动物的基因在大致相同的时候开始分离，但线虫的进化改变却较大：不论是基因还是身体结构，与果蝇比起来都与人类相差甚远。

尽管如此，线虫还是一个很好的模式动物：可以用最简单的方式来研究发育中的最基本问题，并且可以让我们通过对单个细胞研究揭示这些问题的答案。

线虫解剖学结构简单

成体线虫有大约 1000 个体细胞和 1000～2000 个生殖细胞（单性个体中有 959 个体细胞和 2000 个生殖细胞，而在其他个体中有 1031 个体细胞和 1000 个生殖细胞；图 21-16）。通过电镜观察重构了线虫的解剖学结构。线虫的身体结构很简单：身体表面粗糙而且两侧对称，细长的身体由相同的基本组织构成（神经、肌肉、肠道、表皮），身体前端是嘴和大脑，身体后部是肛门。身体外表皮由两层组成：保护性的表皮或“皮肤”和内部的肌肉层。内部中胚层管道形成了肠道。另一个在肠道和表皮间的管道是生殖腺；有体细胞在外部包裹，内部是

生殖细胞。

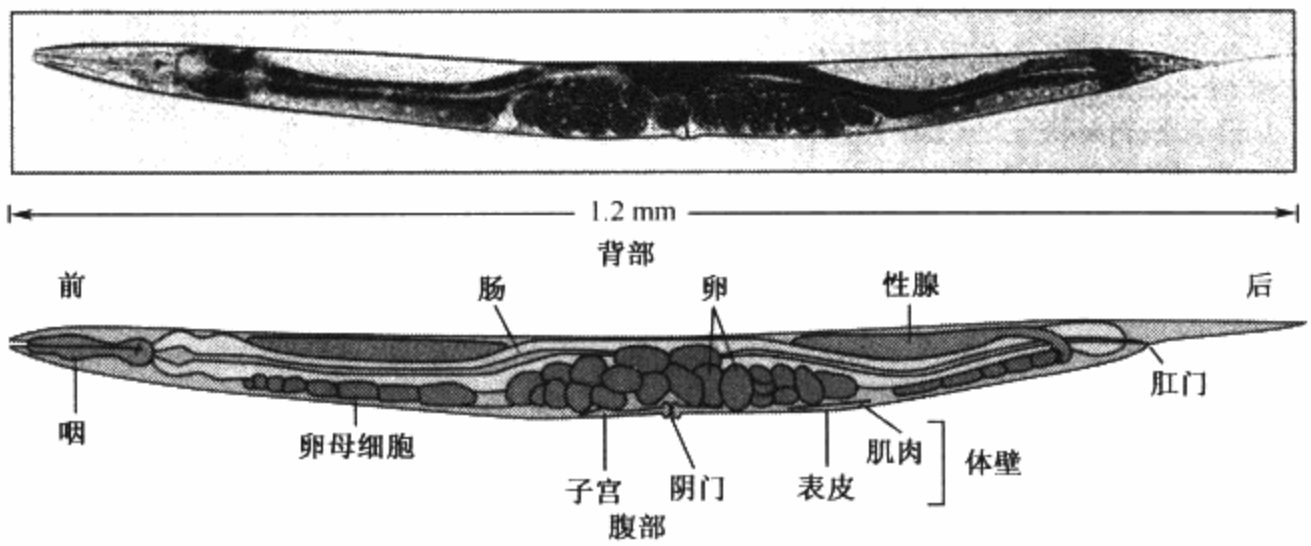


图 21-16　线虫。成体雌雄同体线虫侧面观

(J. E. Sulston 和 H. R. Horvitz *Dev. Biol.* 56：110～156，1977. © Academic Press)

线虫有两种性别——雌雄同体和雄性。雌雄同体并不等同于雌性，它能产生有限数量的精子。能够通过自体受精复制自身，或者与其他雄性异体受精。自体受精可以使杂合子线虫产生纯合子后代。这一点对于用线虫进行遗传学分析是一个重要的便利之处。

线虫发育的细胞命运可以被精确预言

线虫由单细胞（受精卵）开始发育，通过重复的细胞分裂形成由卵鞘包裹的 228 个细胞的小线虫。孵化后，经过再次的细胞分裂和 4 个幼虫阶段，线虫生长和性成熟。在最后一次蜕皮后就到了成虫阶段，雌雄同体线虫就开始产生自己的后代。整个发育过程，从受精卵到受精卵，大约是 3 天。

从受精卵到多细胞成体，每个细胞的谱系通过直接观察发育过程都可以被准确绘制。每个先驱细胞按照既定的模式进行分裂，每一个后代细胞都可以很容易的被定位在谱系树中的特定位置（图 21-17）。

这种精确的预见性就不会存在于大型动物的发育中。首先，线虫胚胎中的每一个细胞都快速而独立的按照既定程序进行细胞分裂和细胞分化，这使得线虫成为了研究发育生物学良好的模式动物。但我们同时还要看到：在其他的动物中，发育依赖于细胞-细胞间的相互作用和单个细胞内部程序。线虫中的这一高度精确的预见性依赖于细胞-细胞间相互作用图案的高度可重复性和细胞分裂顺序的精确性。

母源基因产物控制了受精卵的不对称分裂

与其他动物一样，线虫的发育中，大部分细胞并不会被限定在单一的分化通路中，特定类型的细胞，如肌肉细胞就是由多个可以发育为其他类型细胞的空间散布的先驱细胞发育而来的。线虫中只有肠道和生殖腺例外，它们都由单一的祖先细胞发育而来，形成肠道的细胞在 8 细胞期产生，而形成生殖腺的细胞在 16 细胞期产生。同时，胚胎中的其他细胞也开始各自的分化，虽然并不一定是向最终模式分化。那么这些早期细胞间的不同是怎样产生的呢？

线虫是研究生殖细胞早期分化的典型模式动物，线虫的生殖细胞系是经过一系列严格的受精卵不对称分裂产生的。这一不对称性是由受精卵自身环境决定的：精子的进入位点决定了受精卵未来的前孔，然后，受精卵中的蛋白质相互作用并在细胞内部建立更精确的不对称性。这

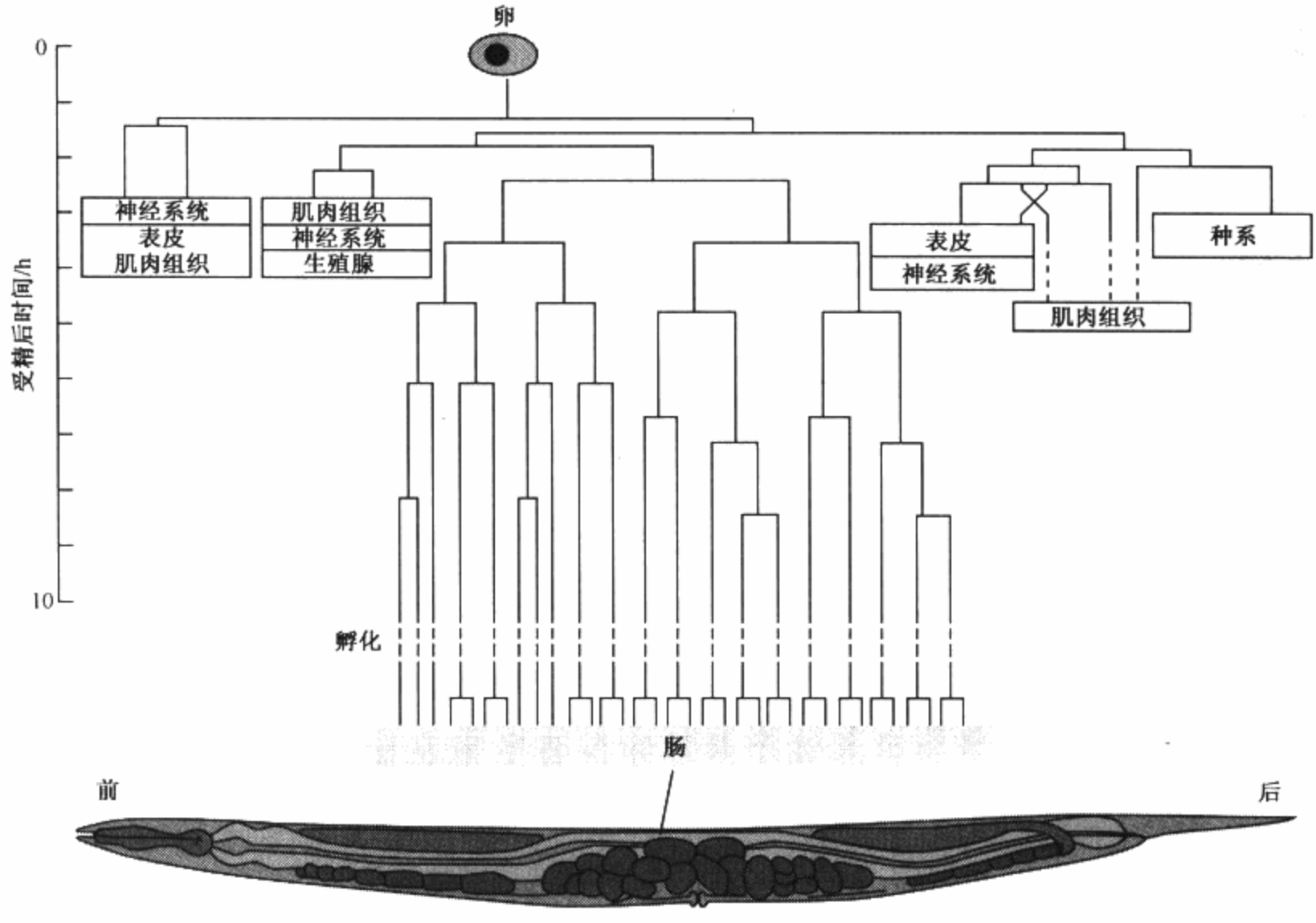


图 21-17　线虫肠道细胞谱系树

线虫肠道细胞是由单个细胞发育而来的，而其他的器官却不是。神经细胞在前端和后端以及背部神经索聚集成簇

些蛋白质往往是母亲基因的 mRNA 翻译产生的，由于这些 mRNA 在卵细胞产生前形成，所以在发育的早期阶段只有母亲的基因产生作用。这样行使功能的基因被称为**母源效应基因**。

一部分母源效应基因决定了线虫受精卵的不对称分裂。它们被称为 *par* 基因，通过遗传突变筛选，至少已发现了 6 个这样的基因。*par* 基因在昆虫和脊椎动物中都有同源物，它们与其他细胞内组分共同协调调控细胞骨架极性来控制细胞不对称性。

在线虫的受精卵中，Par 蛋白携带一些被称为 P 颗粒的核蛋白到达前端，那么前部子代细胞就含有 P 颗粒而后部细胞不含 P 颗粒。在随后的多次分裂中，Par 蛋白以同样的方式行使作用，确定纺锤体方向并将 P 颗粒分配到一个子代细胞中，直到 16 细胞期后，仅仅有一个细胞含有 P 颗粒（图 21-18），这个细胞就是生殖细胞。

生殖细胞先驱细胞不同于体细胞先驱细胞的特征是不同动物发育中的关键时间，而且不同门类动物的这一过程具有共同特征。在果蝇中，类似于 P 颗粒的物质也被分配到了卵的一端，并聚集在生殖细胞的先驱细胞内决定其命运。鱼类和爪蟾中也存在类似的现象。在所有的物种中，我们都能在生殖细胞决定物质中发现某些相同蛋白质，包括称为 Vasa 的 RNA 结合蛋白。但 Vasa 和其他蛋白质、RNA 分子是如何决定生殖细胞的我们还不了解。

细胞-细胞间相互作用建立了更复杂的图案

线虫的卵细胞和其他动物的一样，是一个很大的细胞并具有复杂的内部图案。除了 P 颗粒外，其他的因子在 Par 蛋白的控制下沿着前后轴散布，在受精卵第一次细胞分裂后就分配

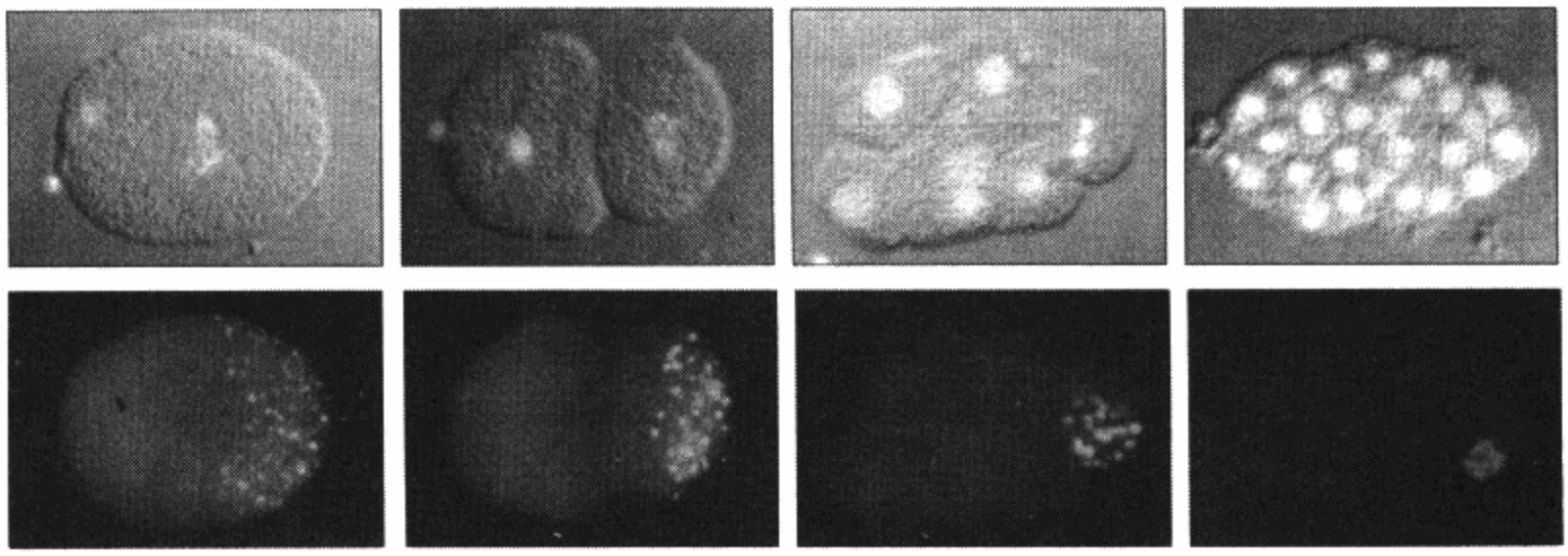


图 21-18　不对称分裂将 P 颗粒分配到线虫生殖细胞的祖细胞

上部为细胞分裂的电镜扫描图，细胞核被 DNA 特异的荧光染料染成蓝色；下部为用抗 P 颗粒抗体染色。在未受精的卵中，这些颗粒均匀地分布在细胞质中。受精后，分裂到 16 细胞期，P 颗粒被不对称分裂分配到一个子代细胞中（经 Susan Strome 许可）

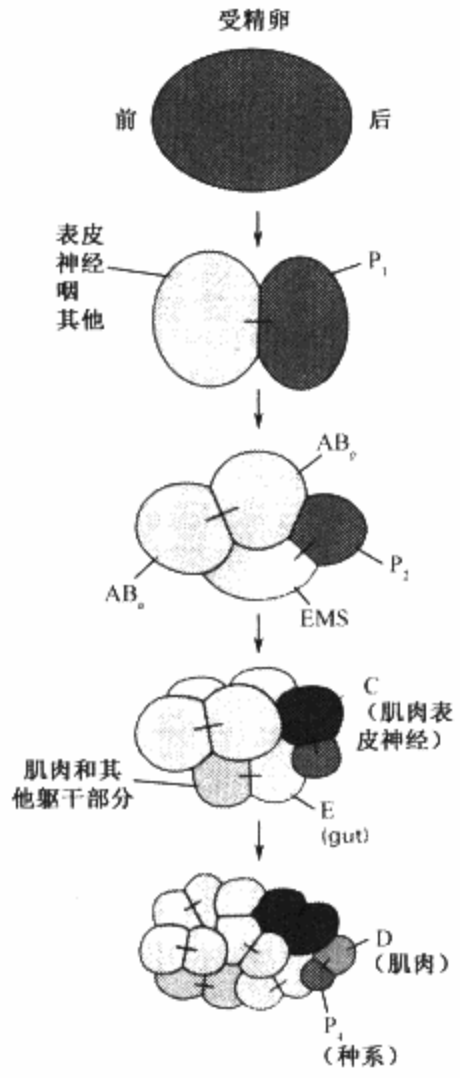


图 21-19　早期胚胎的细胞分裂图案，图中标识了每个细胞的名称和命运

在不同的细胞中。在分裂的过程中，细胞并不生长，所以形成了许多更小的细胞。其中一些因子是基因调控蛋白，它们激活或抑制特定基因的表达，增加了细胞与周围细胞的不同并促使向特定命运分化。

线虫最初沿前后轴的细胞不同是细胞不对称分裂的结果。但随后的图案，包括沿其他轴细胞类型图案都依赖于细胞与其他细胞间的相互作用。胚胎中细胞谱系是可重复的，在所有动物中每个细胞都可以被命名（图 21-19）。例如，4 细胞期的细胞分别被命名为 ABa、ABp（两个前部细胞）、EMS 和 P_2（两个后部细胞）。通过不对称分裂，P_2 细胞在其表面表达一个信号蛋白（Notch 配体 Dleta 的同源物）而 ABa 和 ABp 表达 Notch 的同源物。随着受精卵的延伸，在最前端的细胞 ABa 和最后端的细胞 P2 不再相互联系。因此，只有 ABp 和 EMS 受 P2 细胞信号的影响。这些信号作用于 ABp，促使其与 ABa 分化并形成了线虫的背腹轴（图 21-20）。

与此同时，P2 细胞也表达其他的信号，Wnt 蛋白作用于 EMS 细胞上的 Wnt 受体蛋白 Frizzled。这一信号促使 EMS 产生极性并控制了有丝分裂纺锤体的方向。在 P2 细胞 Wnt 信号的影响下，EMS 细胞就分裂为两个不同的子代细胞。其中一个 MS 细胞将产生肌肉和身体的其他部分，而 E 细胞将会产生肠道（图 21-20）。

在介绍完线虫早期发育一些主要的原因和影响后，我们将介绍一些常用的方法。

显微技术和遗传学揭示了发育控制的逻辑；基因克隆和测序揭示了分子机制

为了研究分子机制，我们需要知道胚胎中每个细胞发育的倾向。在什么时间这些细胞进行内部改变从而决定其特定命运，在什么时候它们又依赖于其他细胞的信号呢？在线虫中，我们可以用激光显微技术，方便地杀死某个细胞中一个或多个细胞，然后我们观察细胞在新环境中的变化。同样，我们还可以用针将细胞移动到胚胎的其他部位。例如，ABa 和 ABp 间的相对位置关系就可以在 4 细胞期被改变。ABa 细胞就会走上原本是 Abp 细胞的命运，也就是说，这两个细胞在最初是相同的，受到不同的外界信号后开始分化。第三种方法是将早期线虫胚胎用酶消化，并体外培养，P_2 细胞到 EMS 细胞的极性信号就是用这一方法发现的。

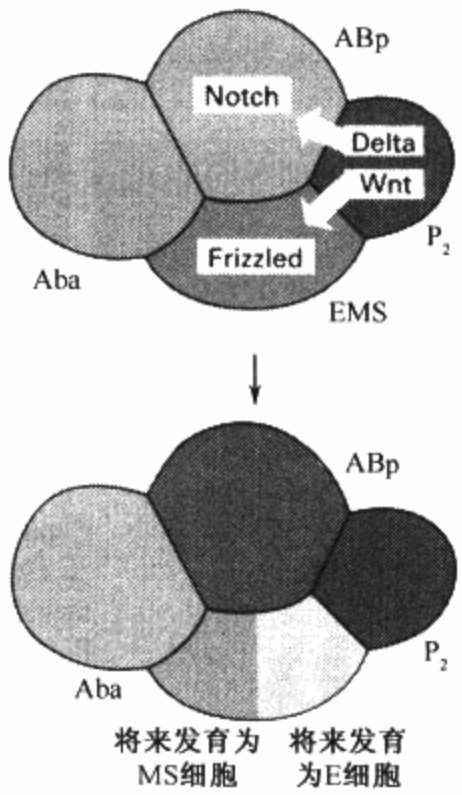


图 21-20　决定线虫胚胎 4 细胞期每个细胞特征的信号
P2 细胞通过 Notch 信号对 ABp 细胞发送诱导信号。Aba 细胞具有接受同样信号的所有分子，但其距离 P2 较远而不受影响。同时，P2 的 Wnt 信号影响了 EMS 细胞中纺锤体的方向并产生了两个不同的子代细胞——MS 细胞和 E 细胞

遗传筛选找到了许多在 P2-EMS 细胞间相互作用中起作用的基因。我们寻找那些肠道细胞缺失的线虫突变体。克隆和测序后的 mom 基因是在 P2 细胞中表达的编码了 Wnt 信号通路中的一个蛋白质，而另一个编码 Wnt 受体——Frizzled 的蛋白质表达在 EMS 细胞中。另一个遗传筛选是寻找那些有相反表型的突变体，它们有两个肠道细胞。*Pop* 基因编码了基因调控蛋白，其活性在线虫中被 Wnt 信号抑制。当缺失 *Pop-1* 时，EMS 的两个子代细胞都可以接受 P2 的 Wnt 信号。类似的遗传学筛选还找到了调控 P2 和 ABa 细胞间 Notch 信号的基因。

通过这一方法，我们就可以建立起线虫发育事件的详细图案，而这些事件都是由特定的机制控制的。

受到发育信号影响后，细胞会发生改变

成体线虫复杂的身体图案是通过重复使用那些图案形成机制的结果，包括那些在早期胚胎中存在的机制。例如，依赖于 *Pop-1* 基因调控蛋白的不对称性分裂在线虫的整个发育中都存在，并促使前部细胞和后部细胞的分化。

如同我们先前强调的，同样的少数信号在发育的不同时间和位置被重复使用。但由于细胞的年龄和经历不同，这些信号的作用也不相同。例如，我们知道在发育的 4 细胞期，ABp 细胞由于受到 Notch 信号而改变了其发育命运。而在 12 细胞期，ABp 细胞的子代细胞和 ABa 的子代细胞都会受到另一个 Notch 信号，而这次是 EMS 细胞分泌的。ABa 的子代细胞在受到这一信号后改变其命运发育为咽。而 ABp 的子代细胞却不是这样，由于在早期受到 Notch 信号调控，就不会对 Notch 信号再次响应，从而向不同的方向分化。12 细胞期的 Notch 信号诱导咽的产生，而 4 细胞期的 Notch 信号却有另外一个作用——抑制发育后期 Notch 信号诱导咽部的产生。

异时性基因控制了发育的时间表

细胞并不需要接受外界信号就可以发生改变：细胞内的调控分子就可以驱动其他产物，

细胞从而可以自主经过一系列的不同状态。这些状态不仅仅是它们对细胞外信号的响应不同，还包括其内部物质的不同，包括那些起始或停止细胞分裂的蛋白质。通过这一方法，细胞的内部机制与过去及现在接收的信号一起决定了细胞内生化改变的顺序和细胞分裂的时间表。

控制发育时间程序的分子机制仍然是很神秘的。即使是在细胞分裂被准确描述的线虫胚胎中，我们对细胞分裂的顺序是怎样被控制也是知之甚少。然而在发育的晚期，当幼虫进食、生长成为成虫后，我们可以找到一些控制细胞事件时间性的基因。这些基因的突变导致了异时性：某个时期幼虫的细胞看起来像是其他时期的细胞，或者说成虫的细胞却按照幼虫细胞的分裂方式进行分裂（图 21-21）。

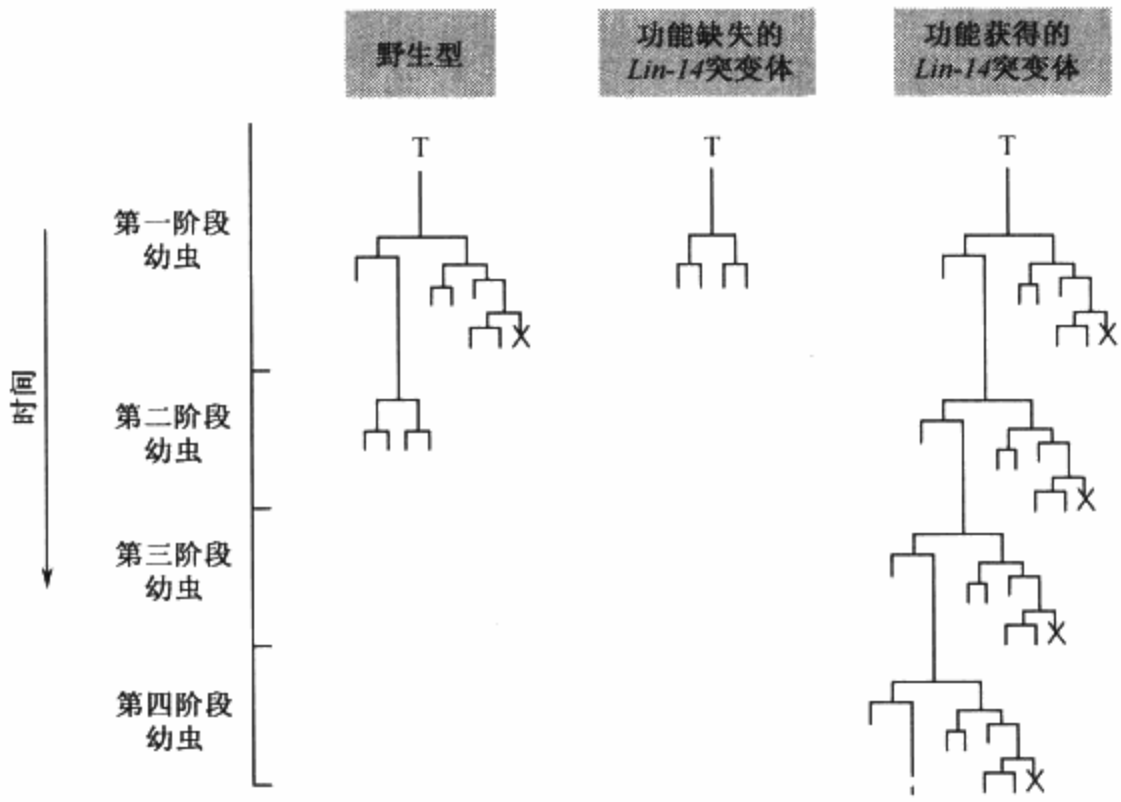


图 21-21　*lin-14* 基因的异时性突变

图中仅显示对某一细胞谱系的影响。*lin-14* 的缺失突变导致晚期幼虫细胞分裂和分化特征的早熟，以至于较早到达其最终状态时细胞数目减少。过量表达却有相反的作用，导致一龄幼虫细胞继续分裂，在经过五六次细胞分裂以后，身体表皮仍不成熟。叉号标示细胞程序性死亡，绿线表示含有 Lin-14 蛋白的细胞系，红线表示不含 Lin-14 蛋白的细胞系。在正常的发育中，Lin-14 在幼虫开始进食后消失

通过遗传学分析，这些异时性基因一起形成调控级联反应来行使功能。两个基因在级联反应的最顶端——*lin-4* 和 *let-7*，它们不编码蛋白质而是编码了不翻译的 RNA 分子（21～22 核苷酸）。它们通过结合到其他异时性基因 mRNA 的非编码区来决定这些 mRNA 是被翻译还是被降解。增加 *lin-4* 的 RNA 可以使一龄幼虫的细胞行为看起来像三龄幼虫的细胞行为，而增加 *let-7* 的 RNA 控制了晚期幼虫向成虫的转变过程。

类似于 *let-7* 的其他 RNA 分子在许多其他物种中也有发现，包括果蝇、斑马鱼和人。而且，这些 RNA 按照类似的方式调控它们目的 mRNA 的水平，而且这些目的 mRNA 是线虫中靶基因的同源物。这些说明这一系统控制了从早期到晚期发育中细胞行为的时间性。

细胞在计时其内部程序时并不计数细胞分裂

由于细胞分化与细胞分裂密不可分，所以通常认为细胞分裂的周期性控制了发育中其他事件的时间性。在这一观点中，细胞内部状态的改变将不会穿越细胞分裂周期：细胞只有在

完成有丝分裂后才会转变为下一个状态。但有许多证据表明这一观点是错误的。发育胚胎中的细胞，不论是线虫、果蝇还是脊椎动物，即便是细胞分裂周期停止，也都会按照命运决定和分化的时间表进行发育。

细胞凋亡是发育程序的一部分

发育中细胞数目的控制依赖于细胞死亡和细胞分裂。线虫在其发育过程中产生了 1030 个体细胞，但其中有 131 个细胞死亡。这些程序性的细胞死亡是按照特定精确图案发生的。在线虫中，这些细胞可以被准确记录，因为我们可以将每个细胞标记，并观察哪些细胞会死亡，那些凋亡的细胞将很快被周围的细胞吞噬掉（图 21-22）。而在其他物种中，近距离的观察比较难，往往会忽视这些死亡现象。但是细胞凋亡在大部分动物发育中是某些细胞的既定命运，它们对在正确位置产生正确类型和数量的细胞具有重要的作用。线虫的遗传筛选鉴定了许多控制发育中细胞凋亡的基因。三个基因——*ced-3*、*ced-4* 和 *egl-1* 被发现在 131 个细胞凋亡发生时是必需的。如果这些基因发生了突变，这些原本要凋亡的细胞就会继续活着。相反，过量表达或易位表达这些基因会促使那些本可以存活的细胞发生凋亡。同样，我们还发现了一个抑制凋亡发生的 *ced-9* 基因。

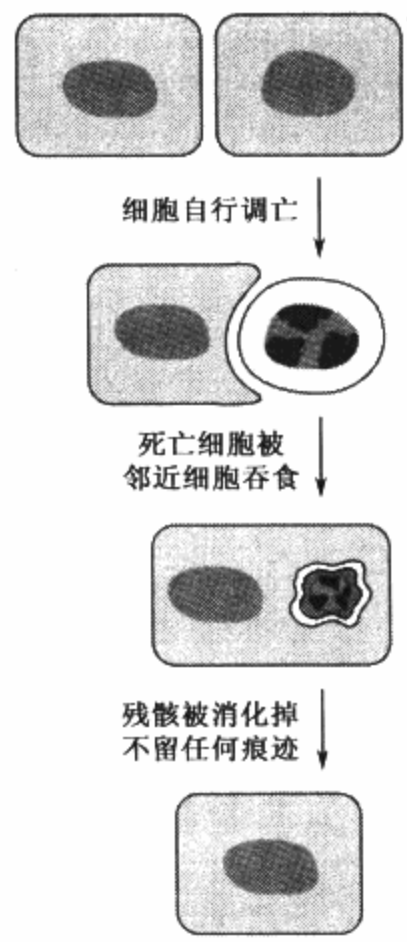


图 21-22　线虫中的细胞凋亡
细胞死亡依赖于 *ced-3* 和 *ced-4* 的表达和 *ced-9* 的不表达。随后的吞噬作用依赖于周围细胞其他基因的表达

所有的这些基因都编码了细胞凋亡中的保守成分。正如在第 17 章中所说的，*ced-3* 编码了 caspase 的同源物，而 *ced-4*、*ced-9* 和 *egl-1* 则是 *Apaf-1*、*bcl-2* 和 *Bad* 的同源物。如果不是对遗传学研究方便的线虫发育进行了细致的研究，我们就很难发现这些基因并理解脊椎动物中的细胞死亡过程。

小结

线虫的发育过程已经被很好的解释并详细记录，身体特定部位的每一个细胞在每个个体中都有相同的命运。而且其全基因组已经测序。所以，强大的遗传学和显微技术可以一起来研究其发育机制。如同在其他生物中一样，发育依赖于细胞-细胞间的相互作用和细胞的自主过程。发育从受精卵的不对称分裂开始，成为两个含有不同细胞命运决定物质的子代细胞。这些细胞的子代细胞通过 Notch 和 Wnt 信号通路建立更加复杂的细胞状态。

同时，一个细胞就可以通过不断的不对称分裂继承那些决定其是生殖细胞前体细胞的物质。遗传筛选发现了许多决定发育中这些过程及随后过程的基因，包括控制特定细胞凋亡的细胞死亡基因。还有控制发育中事件时间顺序的异时性基因，虽然我们对发育中的时间控制还了解很少，但现有证据表明，发育中的时间控制与细胞分裂次数无关。

果蝇身体图案形成的分子遗传学机制

是果蝇（图 21-23）而非其他的动物使我们对基因是怎样协调形成体型有了一定的认识。果蝇的解剖学比线虫复杂的多，细胞数目是线虫的 100 多倍，而且有很多与人类相似的身体结构。但奇怪的是，果蝇仅有 14 000 个基因，远远少于线虫的 19 000 个。但另一方面，每个

基因含有近两倍的非编码 DNA 序列。在这些非编码 DNA 序列区的调控序列比线虫更庞大复杂。

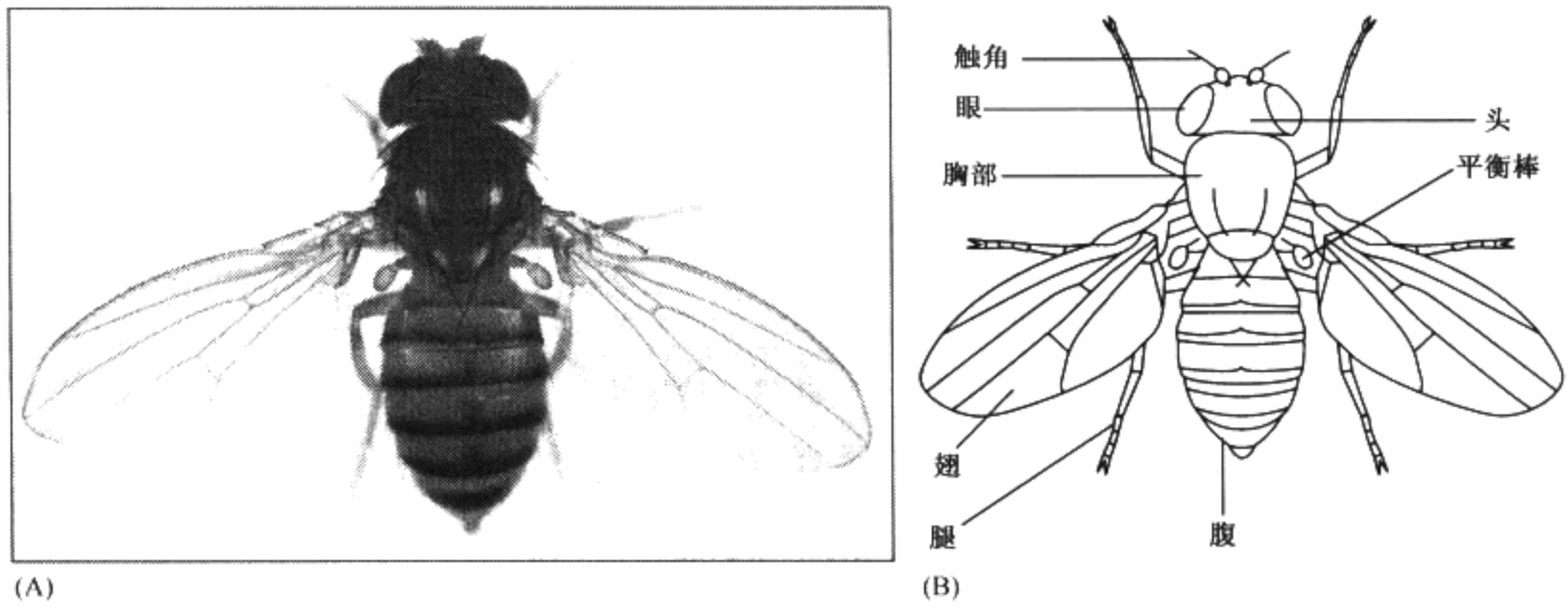


图 21-23　正常果蝇的背部观

（A）照片；（B）示意图（图片经 E. B. Lewis 许可）

几十年的遗传学研究进行了大量系统的遗传筛选，研究发现了一系列决定细胞类型空间排列和果蝇身体结构的发育相关基因，分子生物学也为研究这些基因提供了工具。通过 DNA 或 RNA 探针的胚胎原位杂交或抗体的原位杂交可以显示蛋白质的空间分布，这样我们就可以观察到不同细胞的内在差异，而这些差异是由在不同发育过程中调控基因表达不同决定的。如果分析那些突变细胞和非突变细胞交织的动物时，我们就可以发现作为调控身体结构系统一部分的基因是如何行使功能的。

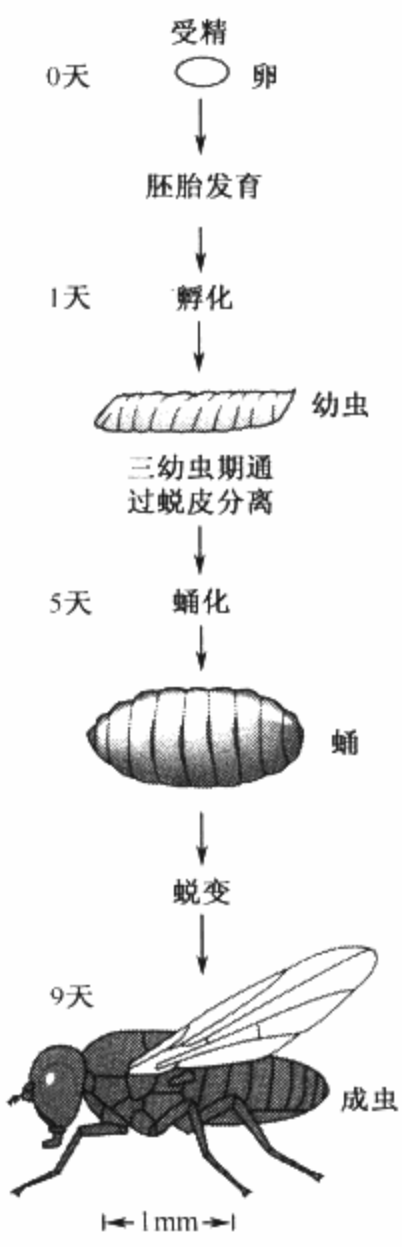


图 21-24　从受精卵到成体果蝇的发育周期

大部分控制果蝇身体图案的基因在高等动物中都有相似的同源物。事实上，许多决定身体图案和决定单个器官或组织的基本原理都是相似的。因此，果蝇就为研究我们自己发育的分子遗传学机制提供了很好的工具。

果蝇和线虫一样是理想的遗传学研究模式动物：饲养便宜，易于突变，生活周期短。但发育生物学家对它如此重视还另有原因。如前所说，脊椎动物基因组发生了复制，故而果蝇中的单个基因常常在脊椎动物中会有两三个同源基因。其中一个基因的突变很难解释基因的核心功能，其他的同源基因还能维持基因的活性。果蝇具有简洁的基因组，它遗传冗余的复杂性也就大大降低了。单基因突变的表型通常就能够揭示突变基因的功能。

昆虫身体由一系列体节构成

图 21-24 所示为果蝇从卵发育到成体的生活周期表。胚胎发育从受精后开始大约持续一天，随后，胚胎由卵鞘中孵出成为幼虫。幼虫大约经历三个阶段，每个阶段都通过脱去原有表皮换成一个更

大表皮的蜕皮过程。三个幼虫阶段后它发生蛹化。在蛹期，身体发生了根本的变化——成为变态。最后在受精后 9 天就发育为成体果蝇。

果蝇有头、口器、眼、触角和三个胸节（T1～T3）和 8 个到 9 个腹节（A1～A9）。每个体节虽然各不相同但都是按照相似的方式发育的。例如，T1 体节有一对足，T2 体节有一对足和一对翅，T3 体节有一对足和一对平衡棒——由原始昆虫具有的第二对翅退化而来的球状结构。副体节从受精后几小时内就开始发育（图 21-25），但在幼虫开始变得明显（图 21-26），此时的体节与成虫的体节就很相似。幼虫的头部和成虫的口器也是分节的。仅仅在两端高度特异化的结构没有分节。

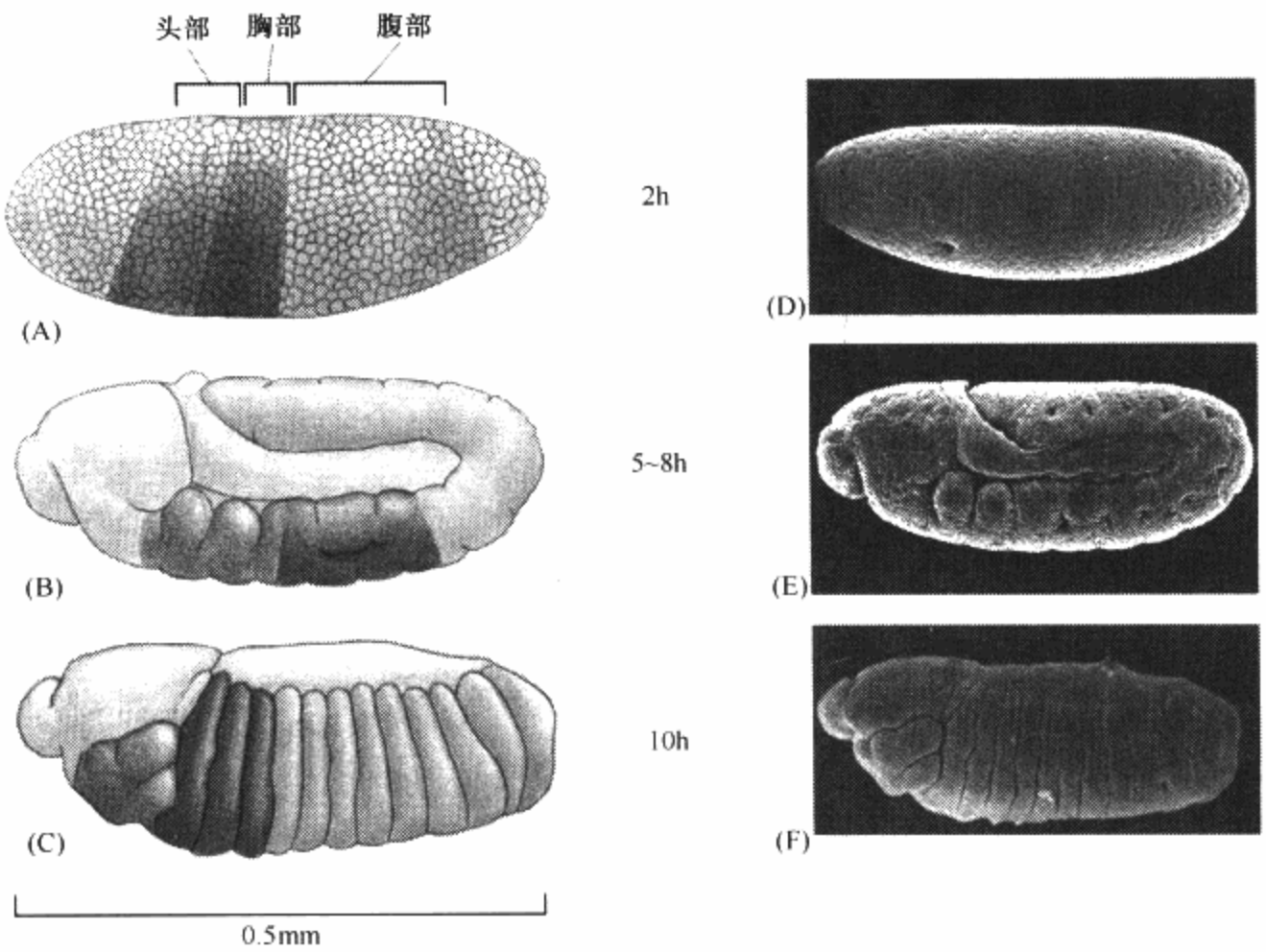


图 21-25　胚胎发育中果蝇体节的产生

胚胎侧面观（A～C）和相应的电镜照片（D～F）。（A）和（D）胚胎前两小时处于合胞体囊胚期（图 21-51）并且没有体节，尽管可以画出命运图显示未来的体节区域（A 中颜色标记）。（B）和（E）5～8h，胚胎处于生殖板期，原肠运动发生，体节开始可见，分节后的体轴开始延长，并在尾部开始回折。（C）和（F）10h 后，体轴开始缩短并再次变直，所有的体节都清晰可见。此时可观察到的头部结构将会卷曲到幼虫的前部区域，直到幼虫经过蛹期变为成虫才会再次出现［(D) and (E) F. R. Turner 和 A. P. Mahowald, *Dev. Biol.* 50：95～108，1976. © Academic Press；(F) from J. P. Petschek, N. Perrimon, and A. P. Mahowald, *Dev. Biol.* 119：175～189，1987. © Academic Press.］

体节间的边界通常是可见的解剖学结构；但当我们研究基因表达图案时，用副体节划分将会更为方便，副体节是由传统体节的一半构成的（图 21-26）。

果蝇从多核体开始其发育

果蝇受精卵有 0.5mm 长，直径 0.15mm，并有明显的极性。与其他昆虫的受精卵一样，它有着与众不同的发育方式。经过一系列的核分裂没有细胞分裂产生多核体。早期的核分裂很快，大概是 8min 一次。开始的 9 次核分裂产生一团细胞核并逐渐迁移到卵表面。又经过 4 次分裂，细胞膜从卵表面包裹细胞核，最终产生有 6000 个细胞的囊胚（图 21-27）。在卵最后端的大约 15 个细胞具有较早的细胞周期，它们就是生殖细胞的前体细胞，最终将发育为精子和卵子。

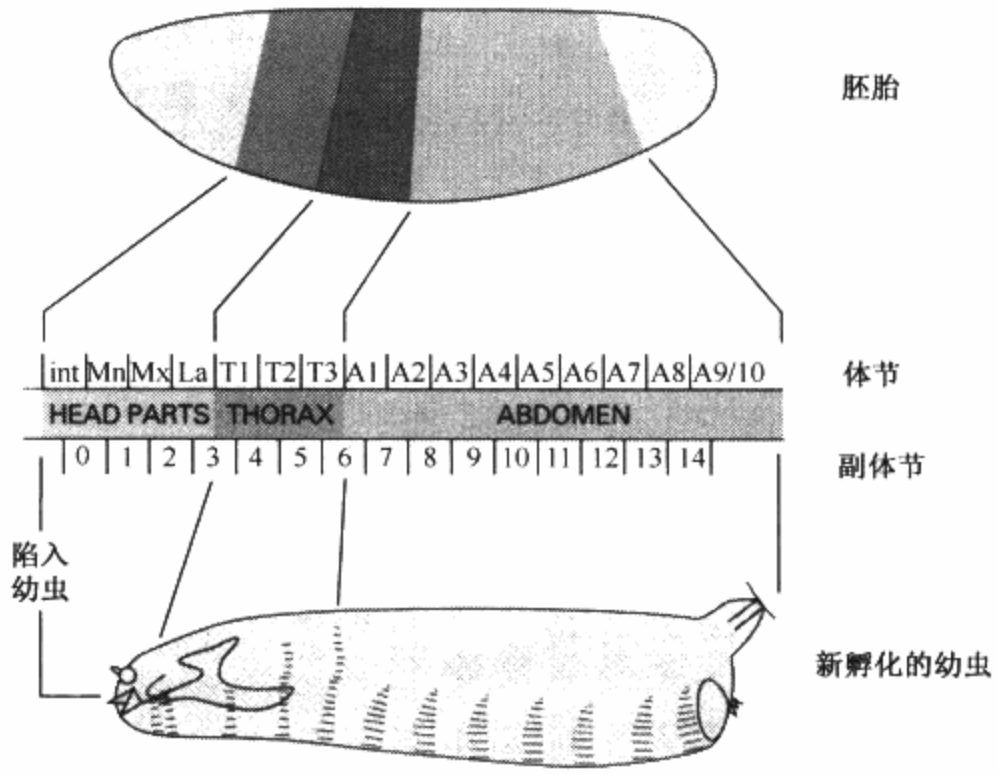


图 21-26　果蝇幼虫的体节和其相对应的胚盘期区域

那些将要成为体节的区域被颜色标记。胚胎两端的灰色区域不会成为体节，而是向内部卷曲形成头和肠的内部结构（成虫头部的分节结构也会卷曲到幼虫的内部）。果蝇的体节可以分为体节和副体节两类，图中部显示了两者的关系。副体节对应于基因的表达图案。腹部体节的准确数量是存在争议的：有 8 个是明确的，第 9 个在幼虫时存在但在成虫中没有

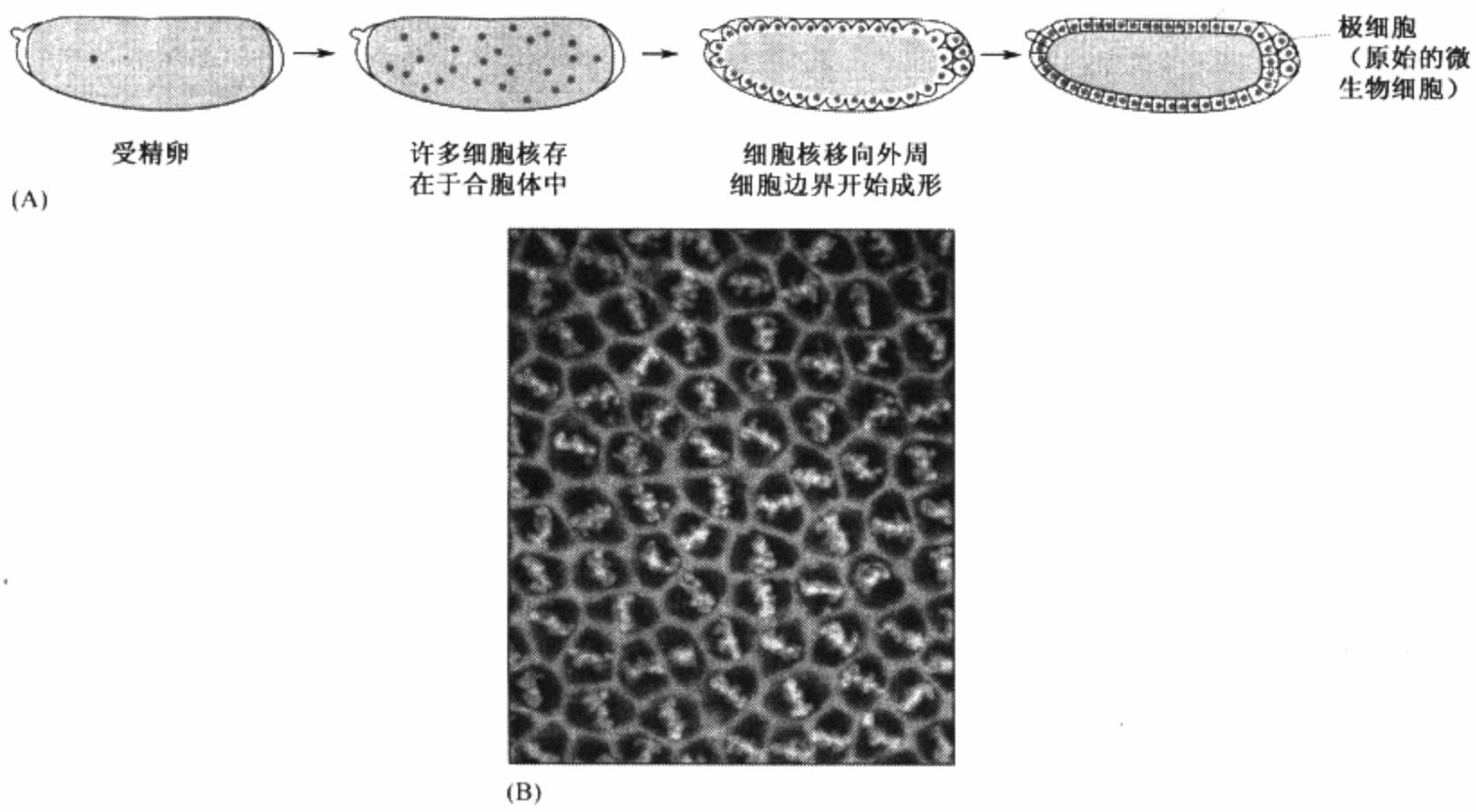


图 21-27　果蝇受精卵到细胞化胚盘期的发育过程

（A）示意图。（B）表面观——由合胞体阶段向细胞化胚盘阶段发育中正在有丝分裂的细胞核。肌动蛋白被绿色标记，染色体为橙色［（A）来自 H. A. Schneiderman，Insect Development［P. A. Lawrence，ed.］，pp. 3～34. Oxford，UK：Blackwell，1976；（B）经 William Sullivan 许可］

直到囊胚期，发育主要依赖于受精前储存在卵中的母源性 mRNA 和蛋白质。细胞化后，细胞按常规方式分裂，分裂不同时并且减缓，但基因转录增加。原肠胚发育在细胞化结束前开始，部分胚胎外表面细胞向内卷曲并形成肠道、肌肉和相关内部组织。随后，另外一些细胞也由外向内卷曲形成神经系统。利用细胞标记和追踪技术，我们可以画出囊胚期胚胎表面细胞的命运图（图 21-28）。

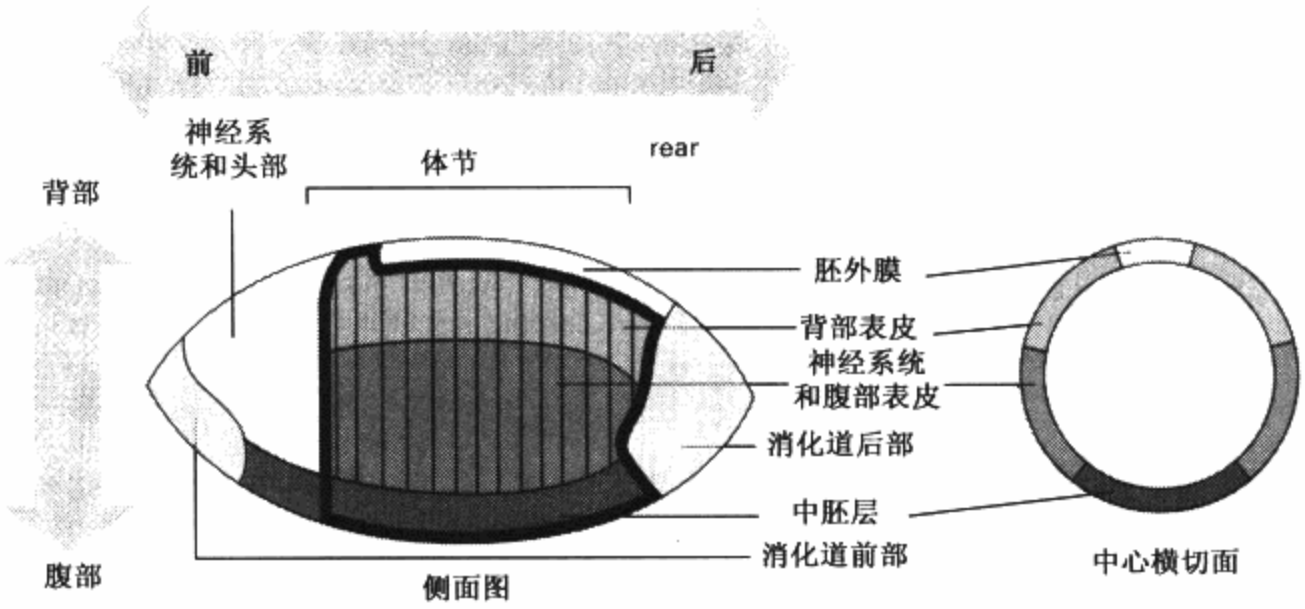


图 21-28　细胞化胚盘期果蝇胚胎的命运图

图示为胚胎的侧面观和横切图，图中显示了将发育为主要组织类型的背腹分区和未来体节前后分节的关系。粗线内部区域将发育为体节（V. Hartenstein，G. M. Technau，and J. A. Campos-Ortega，Wilhelm *Roux'Arch. Dev. Biol.* 194：213～216，1985.）

在原肠胚发育快要结束时，胚胎表面会产生许多突起和凹陷，这些标志着胚胎将沿前后轴发生体节分化（图 21-25）。很快，一个体节分化完的幼虫出现并可以开始进食和生长。在幼虫的体内仍有一些未分化的细胞，它们形成了成虫盘。随着发育，它们将会形成成虫的表面结构。

与其他动物发育相似，果蝇的身体图案特征包括一个头端、一个尾端、一个腹部、一个背部、一个肠道、一个神经系统和一系列的体节分化。接下来我们将讨论这一身体图案建立的机制。

遗传筛选鉴定与特定早期图案建立相关的基因

通过一系列的饱和突变遗传筛选，我们就可以找到大量与早期发育相关的基因，通过互补实验我们可以区分单基因突变和多基因突变（见专题 8-1）。通过表型，我们将这些基因分类，每组内的基因的表型很相似，它们编码的蛋白质很可能一起工作参与一个特定的功能。

通过突变表型揭示的发育功能既有意料中的也有意料外的。根据突变表型的不同，我们在大规模遗传筛选中找到了多组影响果蝇早期发育的基因。通过受精卵和周围细胞的相互作用，卵极性基因（图 21-29）可以决定胚胎的前后轴和背腹轴及胚胎两个端部的命运；缺口基因决定沿早期胚胎前后轴较宽区域的正常发育；成对控制基因是不同体节发育所必需的；体节极性基因负责组织每个体节的前后轴图案。

这 4 组基因的发现及随后的功能分析是发育遗传学史上一个重要的极具启发的事件。它所揭示的胚胎发育中基因调控的系统性和复杂性对其他发育生物学具有革命性的影响。本部分将简单概括果蝇发育的结论，因为这些结论是昆虫特定的，我们将更着重于普遍规律的介绍。

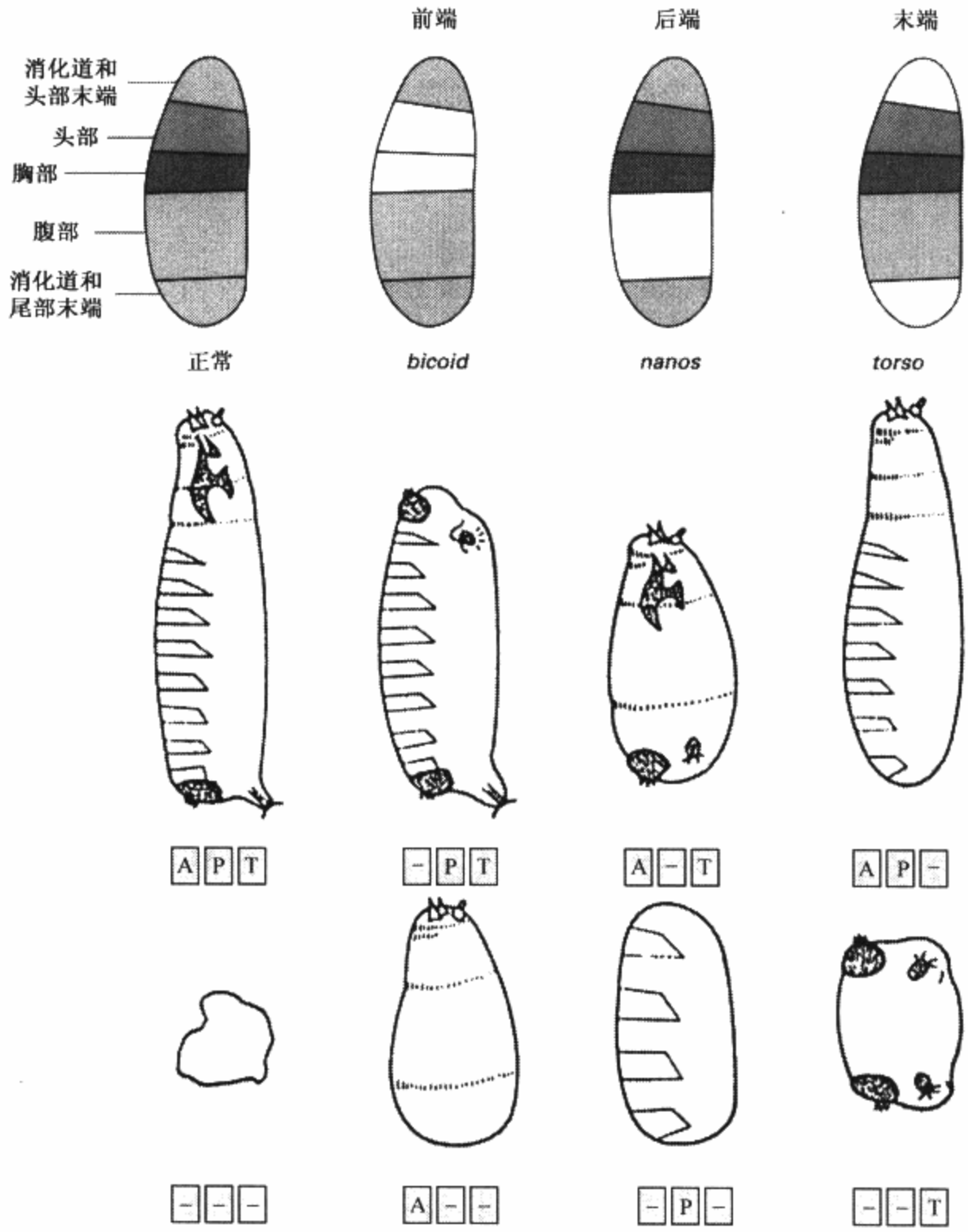


图 21-29　前端、后端、末端系统的卵极性基因表达区域

上图显示卵或早期胚胎不同区域的命运图，并显示了前端、后端和末端系统缺失后影响哪些身体部位的发育。中图显示了正常胚胎和缺失前端系统基因（*bicoid*）、后端系统基因（*nanos*）和末端系统基因（*torso*）后胚胎的表型。底图显示了三个系统同时缺失或仅有一个系统起作用的胚胎表型。每个幼虫下的字母标记显示了三个系统的完整状态（APT 代表正常胚胎，－PT 代表前端系统缺失但后端和末端系统完整的胚胎）

特定基因系统的失活导致相应身体结构的缺失。依赖其他基因系统形成的身体结构仍保留功能。前端系统缺陷的幼虫仍然能够在后部形成正常的末端结构，而且在身体后部的结构比头的前部更为正常

（改自 D. St. Johnston and C. Nüsslein Volhard，Cell 68：201～219，1992）

卵和周围细胞的相互作用决定了胚胎轴：卵极性基因的功能

奇怪的是，即便是同门的不同动物，早期发育差异也很大。例如，青蛙、鸡和哺乳动物虽然在发育后期相似，但它们的卵在大小和结构上都相差很大，并且是按照不同的细胞分裂顺序和细胞特化事件开始各自的发育。

我们介绍的线虫早期发育方式是多类动物发育的典型方式。相反，果蝇的早期发育与之

完全不同。未来成虫的体轴是在受精前，由卵母细胞和周围的滤泡细胞间信息交换来决定的（图 21-30）。在受精后的多核体阶段，细胞核进行快速分裂但细胞不分裂。此时不需要包括跨膜信号在内的细胞-细胞间信息交换，果蝇胚胎的周围区域可以通过在多核细胞内不扩散或运输的蛋白质或 mRNA 来影响卵发育。

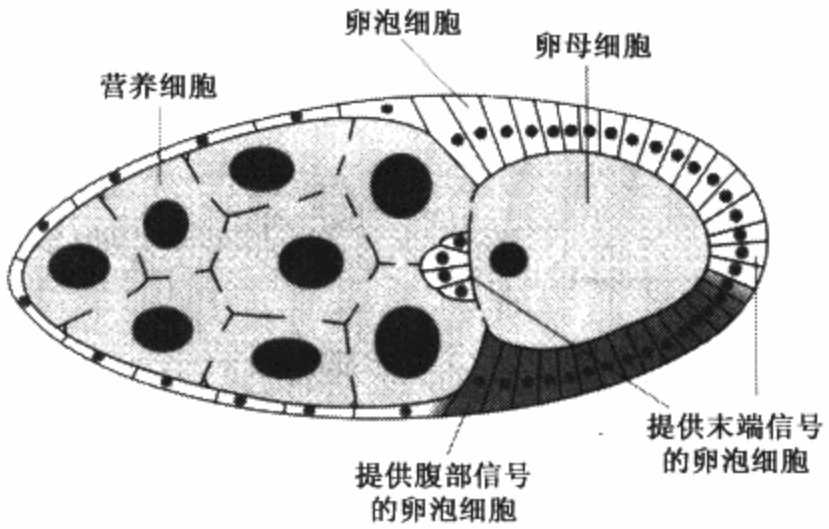


图 21-30　果蝇卵母细胞

卵细胞是一个生殖细胞经过 4 次分裂形成了由彼此间细胞质桥连接的 16 个细胞集合体。这些细胞中的一个会成为卵母细胞，其他的成为滋养细胞，这些细胞产生卵细胞所需的营养物质并通过细胞质桥运输到卵母细胞内。包围卵母细胞的滤泡细胞有其独立的起源。它们是末端系统和腹部系统信号的来源

在受精前，未来胚胎的体轴就被卵细胞中三组基因决定（图 21-31）。在受精后，每组基因以形态发生素浓度梯度的方式来影响发育。其中两组是由特定 mRNA 的位置特异性的聚集产生的。未来胚胎的前部聚集了一个基因调控蛋白 Bicoid 的 mRNA，mRNA 翻译出 Bicoid 蛋白，蛋白质从前向后扩散并形成了浓度梯度。而在胚胎的后部聚集了另一个调控基因 *nanos* 的 mRNA，并和 Bicoid 一样由后向前建立了浓度梯度。第三个信号是在胚胎的两端通过激活跨膜的酪氨酸受体 Torso 而产生的。活化后的受体仅影响较小的区域，促进将来会发育为头和尾的两端和肠原基的发育。这三类基因就是**卵极性**基因中的**前端极性**基因、**后端极性**基因和**末端极性**基因。

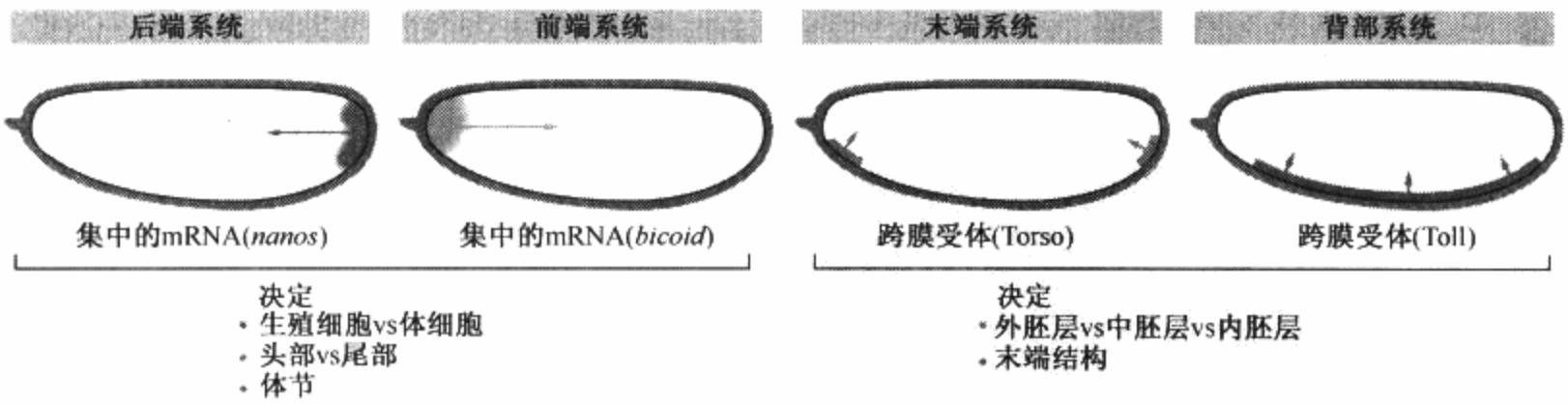


图 21-31　4 类卵极性基因系统的分布

Toll 受体和 Torso 分布在所有的膜上。图中右部颜色标记它们被细胞外信号激活的部位

第四类基因控制了胚胎的背腹轴（图 21-31）：由滤泡细胞产生并运输到未来胚胎腹部的一个蛋白质激活了另一跨膜受体 Toll。参与这一过程的基因为背腹极性基因。

所有这 4 类卵极性基因都是母源效应基因：它们都来自母亲的基因组而不是合子基因组。

也就是说，如果一个果蝇染色体上两个 *bicoid* 基因的拷贝都突变而其母亲携带正常的 *bicoid* 基因，这个果蝇将发育正常。然而，如果这个果蝇是雌果蝇，它将不能产生正常的 *bicoid* mRNA来储存在卵的前部，那么，不管与何种雄果蝇交配，都将产生没有头部的胚胎。

Bicoid、Nanos、Torso 和 Toll 这 4 类卵极性基因都是通过直接或间接调控囊胚期基因表达来行使功能的。但采用这些特殊分子来调控卵并不是胚胎发育的普遍现象，仅仅在果蝇和其亲缘关系很近的昆虫中才存在 *bicoid* 基因。而在此决定胚胎背腹轴的 Toll 基因，其原来的普遍作用是起始免疫反应。

不管怎样，卵极性基因系统揭示了一些高度保守的特征。例如，*nanos* mRNA 在卵后部的定位就依赖于生殖细胞的定位。在发育的后期，随着合子基因开始在这些卵极性基因影响下行使功能时，物种发育的相似性就更明显了，下面我们将用背腹系统的发育来说明这点。

背腹信号基因建立了核基因调控蛋白的浓度梯度

卵腹部 Toll 受体的激活控制了基因调控蛋白 Dorsal 的分布。Dorsal 属于脊椎动物中 NF-κB 基因调控蛋白同源家族（详见第 15 章）。与 NF-κB 一样，其受 Toll 激活的活性依赖于从细胞质向核内的转运，其在细胞质中以非活性形式存在，在核内，它调控了基因的表达。在刚产生的卵中，*dorsal* 的 mRNA（mRNA 原位杂交检测）和蛋白质（抗体检测）都在细胞质中。但在核迁移到胚胎表面形成囊胚后，Dorsal 蛋白的分布就发生了明显的变化：背部区域蛋白仍保留在细胞质中，腹部则进入核内，在两端形成了明显的浓度梯度（图 21-32）。由 Toll 蛋白传递的信号控制 Dorsal 蛋白分布的信号通路同样在 Toll 依赖性免疫反应中有重要作用。

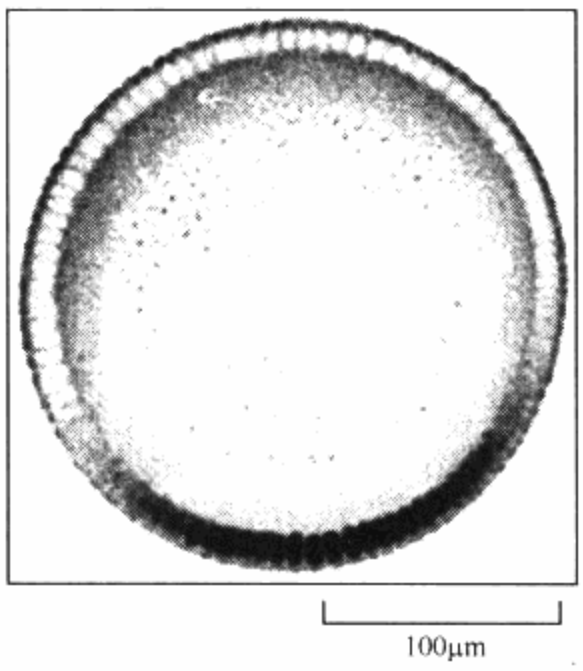


图 21-32　胚盘期 Dorsal 蛋白在核内分布的浓度梯度

背部：蛋白质在细胞质中而不在细胞核中。
腹部：蛋白质从细胞质中聚集到细胞核内

当 Dorsal 进入核内就会控制那些依赖其浓度的基因的表达。这些相关基因的表达依赖于它们的调控 DNA 序列，即依赖于此基因调控 DNA 序列上的 Dorsal 或其他调控蛋白的数量和亲和力。通过这种方式，调控 DNA 序列就解释了 Dorsal 浓度梯度信号，并决定了一个背腹方向的有不同类型细胞带的系列区域［图 21-33（A）］。在腹部，高浓度的 Dorsal 激活了中胚层特异性基因 *twist* 的表达（图 21-34）。在背部，Dorsal 浓度很低并激活了 *dpp* 的表达。而在中部区域，Dorsal 的浓度既不能激活 *twist* 也不能激活 *dpp*，细胞激活了包括 *sog* 在内的其他一些基因。

Dpp 和 Sog 建立了第二个形态发生浓度来精细调控胚胎背部的发育

受 Dorsal 直接调控的基因产生更多决定背腹轴进一步分化的信号。这些信号发生在细胞化之后，并且以传统的细胞外信号分子的方式行使功能。*dpp* 编码的分泌型 Dpp 蛋白在胚胎的背部形成了形态发生浓度梯度。同时在神经外胚层由 *sog* 编码的另一个分泌型蛋白起着拮抗 Dpp 的作用。这两个蛋白质相反的扩散梯度建立了 Dpp 活性的浓度梯度。高浓度的 Dpp 和其他因子一起建立了大部分的背部组织——胚胎外膜；中等浓度的 Dpp 促进了背部外胚层的发育；低浓度的 Dpp 促使神经外胚层的发育［图 21-33（B）］。

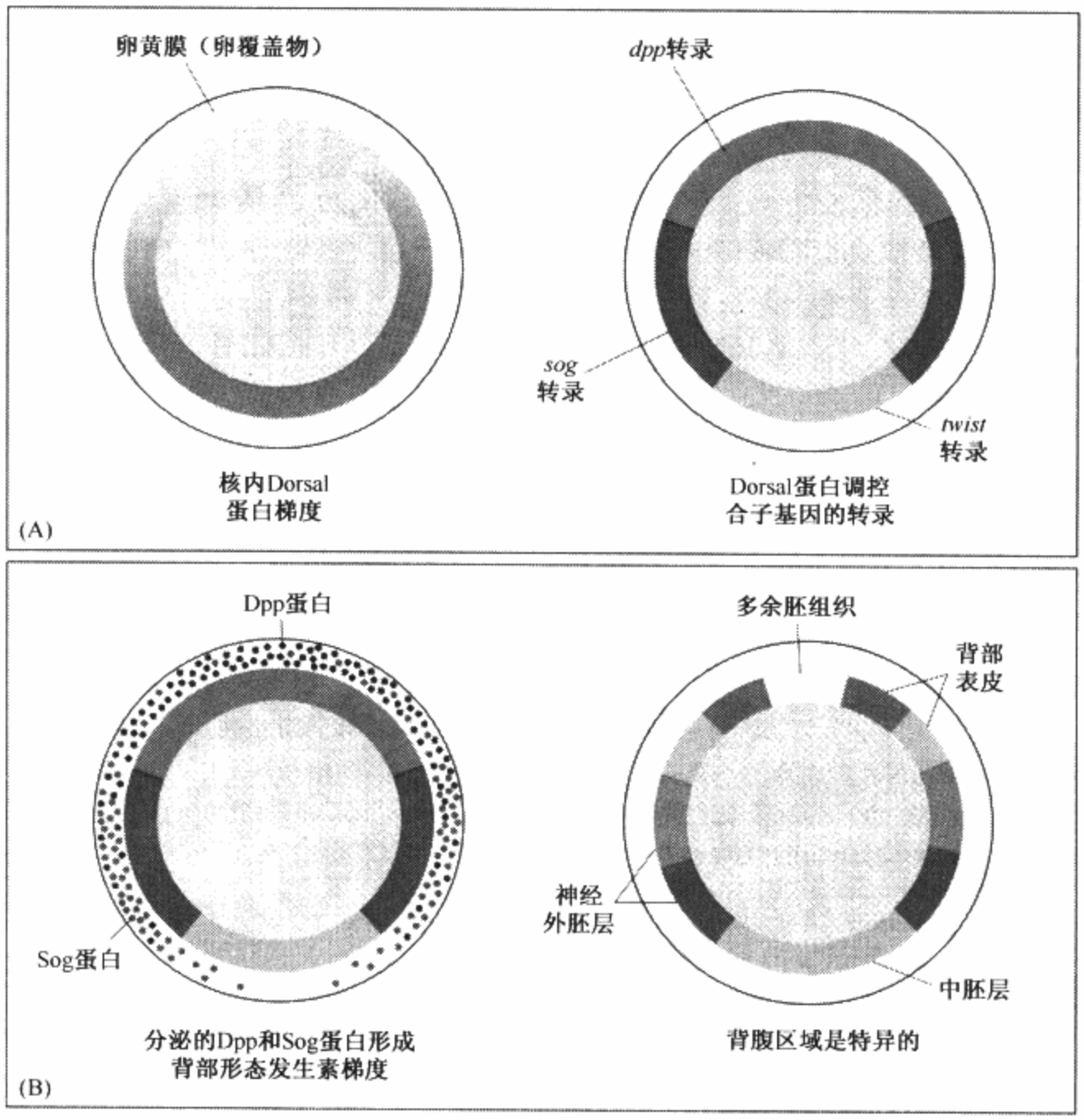


图 21-33　形态发生素浓度梯度决定胚胎的背腹轴

（A）Dorsal 的浓度梯度决定了三个不同的基因表达区域，分别是这里的 *dpp*、*sog* 和 *twist* 表达区域。（B）表达 *dpp* 和 *sog* 的细胞分泌 Dpp 和 Sog 信号。这两个蛋白质结合并相互作用建立了 Dpp 浓度梯度，并诱导建立详细的图案

图 21-34　表达 *twist* 的细胞形成了中胚层

胚胎在相应的时期被固定、横切，并用 Twist 抗体进行染色，Twist 是 bHLH 家族的一个基因调控蛋白。表达 Twist 的细胞向内卷曲形成了中胚层

昆虫的背腹轴对应于脊椎动物的腹背轴

Dpp 是对脊椎动物很重要的 TGFβ 超家族的一员，Sog 是脊椎动物 chordin 的同源物。令人惊奇的是，Dpp 的同源物 BMP4 和 chordin 在脊椎动物中按照与 Dpp、Sog 相同的方式共同形式作用。这两个蛋白质控制了外胚层的背腹图案，高浓度的 chordin 发育为神经的外胚层，而高浓度的 BMP4 活性决定哪些区域不发育为神经外胚层。其他分子机制的研究也强烈暗示昆虫和脊椎动物这部分发育图案是高度保守的。然而，它们的体轴却是相反的，果蝇的背部对应于脊椎动物的腹部（图 21-35）。从这一点上可以看出，在进化史上，这些动物的祖先曾经颠倒身体生活。

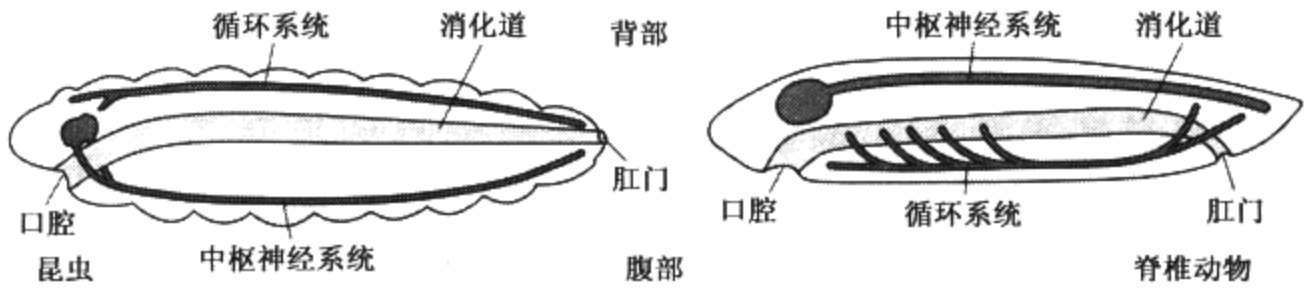


图 21-35　脊椎动物背腹轴对应于昆虫身体的腹背轴

脊椎动物背腹轴形成机制在本章中将会被详细介绍。通过对比循环系统与肠道和神经系统的关系，我们发现在昆虫中循环系统包括一个管状的心脏和一个背大动脉，它们负责将血液输送到身体的其他组织，并将血液再运回到心脏中。与脊椎动物相反，并没有含有血液起到过滤作用的毛细血管系统。但不管怎样，在脊椎动物和昆虫心脏发育中的同源基因，增加了两者身体图案形成的相互关系

三组体节极性基因决定了前后轴的母源图案并细分胚胎

在起始的 Bicoid 和 Nanos 建立的浓度梯度下建立了胚胎的前后轴之后，**分节基因**将这一图案细致化。其中任何一个分节基因的突变都会改变体节的数目和体节内的组织，但不改变整体的极性。体节基因是胚胎内细胞表达的，所以它们的产物是胚胎自己基因组的最早产物，而不是母源基因组留给胚胎的。它们被称为合子效应基因来区别于早期的母源效应基因。

根据它们突变表型和起作用时间的不同，分节基因被分为三组（图 21-36）。第一组是至少 6 个**间隙基因**，它们的产物将胚胎粗分。间隙基因的突变将消除一组或多组邻近的体节，不同间隙基因的突变导致不同的但是特异的体节重叠缺陷。例如，Krüppel 突变导致 8 个体节的缺失，从 T1 到 A5 体节都聚合。

第二组分节基因是 8 个**成对控制基因**。这些基因的突变将导致一系列体节的交替缺失，使胚胎只具有正常一般的体节。所有的成对控制基因突变都表现为两体节周期，它们这些与体节或副体节边缘相关缺失的精确位置是不同的。例如，成对控制基因 *even-skipped*（*eve*）突变导致胚胎缺失全部奇数副体节，而成对控制基因 *fushi tarazu*（*ftz*）的缺失导致全部偶数副体节的缺失。

最后一组**体节极性基因**至少有 10 个成员。这些基因的突变的胚胎体节数量正常，但每个体节都有部分缺失或者被其余部分体节以镜像复制的方式替代。例如，*gooseberry* 突变体每个体节的前半部分（也是每个副体节的后半部分）被相邻的后半部分体节代替（图 21-36）。

随后我们将讨论在体节形成的同时，一组同源选择基因决定了某个体节和邻近体节的不同。

不同的体节突变表型显示，通过不同基因的表达，体节基因形成了一个系统，将胚胎沿

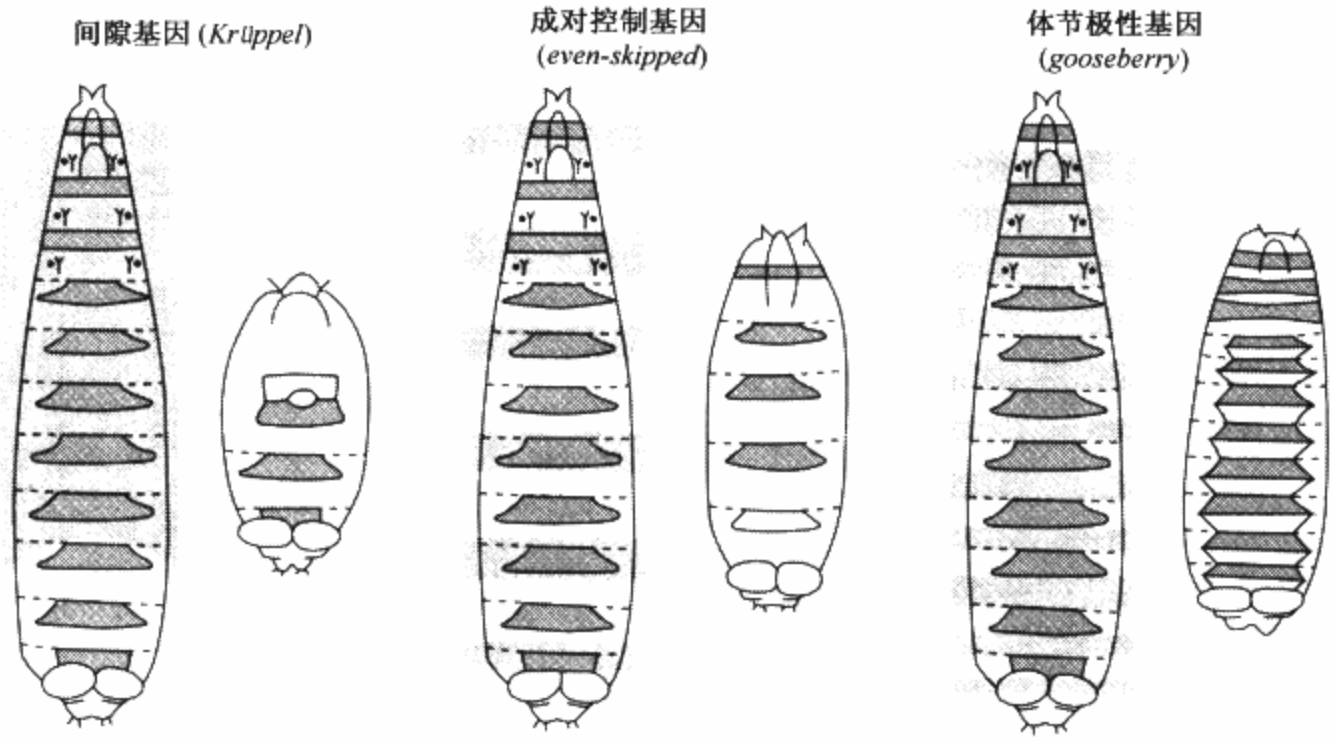


图 21-36　影响三类分节基因突变体的表型

左侧正常幼虫中的绿色阴影部分在突变体中被删除或者被未影响区域以镜像复制的方式代替。显性突变以大写字母表示，而隐性突变以小写字母表示。这些果蝇图案的突变按照显性突变表型分类，因为显性表型在杂合子的时候也容易观察

着前后轴不断细分为更小的区域。分子遗传学帮助我们揭示了这一系统是怎样运行的。

分节基因的表达受位置信号层次的调控

包括间隙基因和成对控制基因在内的大约 3/4 分解基因都编码了基因调控蛋白。通过比较正常和突变体胚胎，我们可以发现这些基因相互作用或作用于其他一些基因。通过相应的探针，我们可以检测基因的表达和蛋白质产物，它们可以快速地调节基因的表达。通过对缺失某一特定分节基因的突变体研究，我们就可以发现全部基因控制系统中的逻辑关系。

卵极性基因为整个胚胎提供了定位信号。它们允许特定的间隙基因在特定的区域表达。间隙基因的产物提供第二级定位信号，通过调节包括成对控制基因在内的其他基因来调节胚胎图案（图 21-37）。成对控制基因相互或与间隙基因一起调控体节极性基因的表达，然后，体节极性基因再相互作用决定体节内部的图案。其中的策略就是顺序地诱导（图 21-15）。在这些过程的最后，由卵极性基因建立起来的浓度梯度就通过顺序传递建立了很好的发育图案。由于最初的定位信号并不包含直接的特定的信息，所以单个细胞核并不能被这些差距很小的信号定位到精确的位置。相反，在信号传递的每一步都有新的信号产生，新的信号通过其浓度变化为精确定位提供了信息。所以顺序诱导是一个非常有效的策略。即使是果蝇发育中有严重的不精确或发育温度等条件完全不同，它们也能形成完全一致的胚胎。

DNA 调控序列的模块化特性使得基因具有多种独立的功能

精确的图案形成过程依赖于控制基因表达的非编码 DNA 序列。这些调控序列与先前表达基因建立的调控蛋白结合。就如同是一个输入输出装置一样，在发育的不同时期，每个基因根据结合在其调控 DNA 序列上的蛋白质不同决定其自身表达。在第 7 章中，我们讲述了一个特定的分节基因——成对控制基因 *eve*，并阐明了它是怎样被已有信号调节表达的（图 7-55）。这一例子将被用来揭示发育中其他的重要原理。

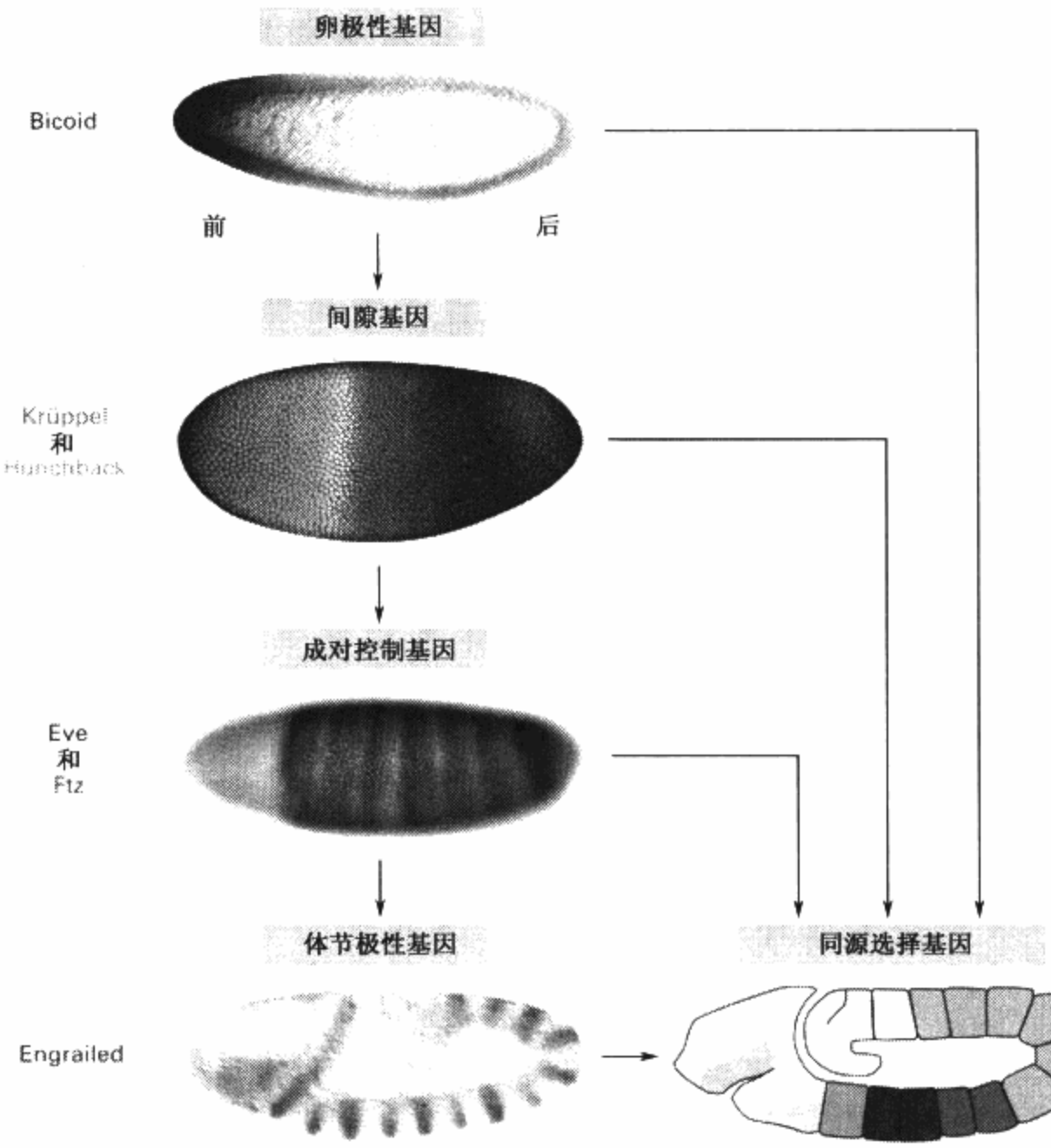


图 21-37　卵极性基因、间隙基因、体节极性基因和同源选择基因的级联调控

图中显示了不同基因的表达区域。随后讨论的同源异型选择基因决定了每个体节的各自特征

eve 表达的条纹依赖于 *eve* 调控 DNA 序列上的不同调控模块。其中一个模块域负责 *eve* 在 1、5 条纹的表达，另一个负责第 2 条纹，一个负责 3、7 条纹，最后一个负责 4、6 条纹（图 21-38）。每一个区域的都要求有一定浓度的卵极性基因和间隙基因产物。通过这种方式，*eve* 调控 DNA 序列就将卵极性基因和间隙基因的复杂图案转变为成对控制基因的精确表达图案。

eve 基因调控 DNA 序列的组织方式代表了多细胞动物和植物的基因调控方式。将受不同调控蛋白调节的模块序列排列在一起，可以产生任何基因表达图案。某一个调控模块的改变可以改变某一部分基因表达而不影响其余部分，并且也不需要改变那些还需要调控其他基因的调控蛋白。正如第 7 章所说，正是调控 DNA 序列包含了多细胞动物和植物复杂组织形式的关键因素，这也使得在进化中有机体的每个部分都可以独立地进行适应性进化。

大部分的分节基因在果蝇发育的其他时间其他位置都有重要作用。例如，*eve* 在其他增强子的调控下可以在神经元、肌肉前体细胞和其他位置表达（图 21-38）。通过增加调控 DNA 序列上的模块，为了新目的可以在身体的新位置产生新功能，而不影响其原来的功能。

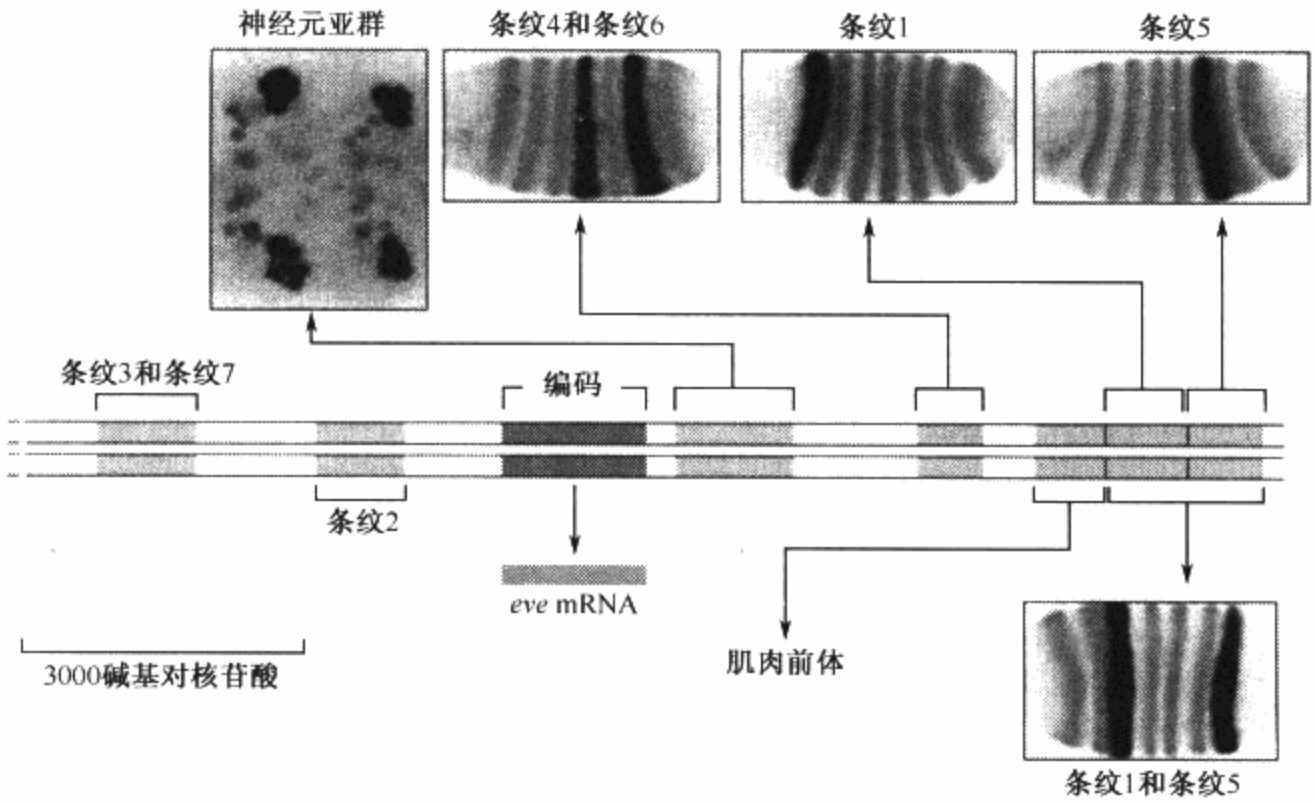


图 21-38　*eve* 基因调控 DNA 序列的模块化组织

将调控 DNA 的片段与 *LacZ* 报道基因连接。通过原位杂交检测转基因果蝇中的 *LacZ* 表达，并用 Eve 抗体染色显示正常 *eve* 的表达范围。不同的调控序列决定了基因在不同区域的表达

卵极性基因、间隙基因和成对控制基因建立了瞬时图案并被其他基因维持

在受精后的最初几个小时内，间隙基因和成对控制基因都被激活。它们的 mRNA 产物就以接近最终图案的方式出现，随后很短的时间内通过一系列的相互调整。基因产物的最初分配使它们具有了控制清楚条带系统产生的功能（图 21-39）。但这一系统是不稳定的和瞬时的。当胚胎发育到原肠胚期及以后时，间隙基因和成对控制基因产物的调控分节图案就开始区别开来。这些过程就将囊胚期的每一个细胞都标记了一个位置值。这些位置标记被保留在体节极性基因和同源异形选择基因持久活动过程中，而体节极性基因和同源异型选择基因控制了幼虫和成虫的体节形成。其中，体节极性基因 *engrailed* 就是一个很好的例子。它的转录本在细胞化的囊胚期有 14 条可见的带，每条都是一细胞宽，对应于未来的每个副体节（图 21-40）。

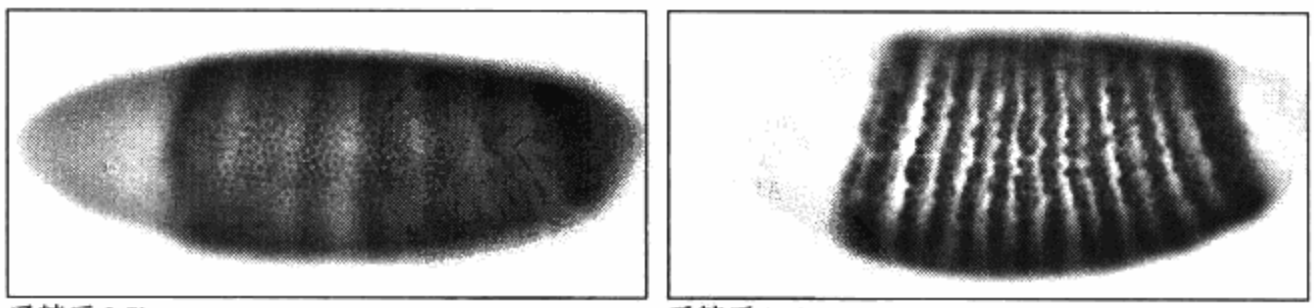


图 21-39　果蝇胚盘中 *ftz* 和 *eve* 表达带的形成

ftz 和 *eve* 都是成对控制基因。它们的表达开始模糊，随后形成了清晰的带

体节极性基因在每个副体节中都重复表达，它们的表达受到成对控制基因表达的诱导。然而，每个副体节内图案的形成却依赖于体节极性基因自身的相互作用。这些相互作用在囊胚完全分割成单个细胞前一直发生，所以，不同的细胞-细胞间信号在一起行使功能。一些体

节极性基因编码了两个信号转导通路的蛋白质——Wnt 信号通路和 Hedgehog 信号通路，包括可分泌的信号蛋白 Wingless 和 Hedgehog。它们在不同的细胞带内表达，并作为每个副体节的信号中心，可以维持并精确其他体节极性基因的表达。更重要的是，虽然它们的初始表达是由成对控制基因决定的，但随后这两个却能够相互促进对方的表达，而且这一过程能够促进 *engrailed* 等基因在正确的位置表达。

engrailed 的表达图案在其组织信号消失很久后仍然能够维持（图 21-40）。这一例子不仅说明胚胎的进一步分节是由越来越窄的局部信号控制的，并且解释了早期发育中瞬时信号是怎样转变为后期稳定的发育信息的。

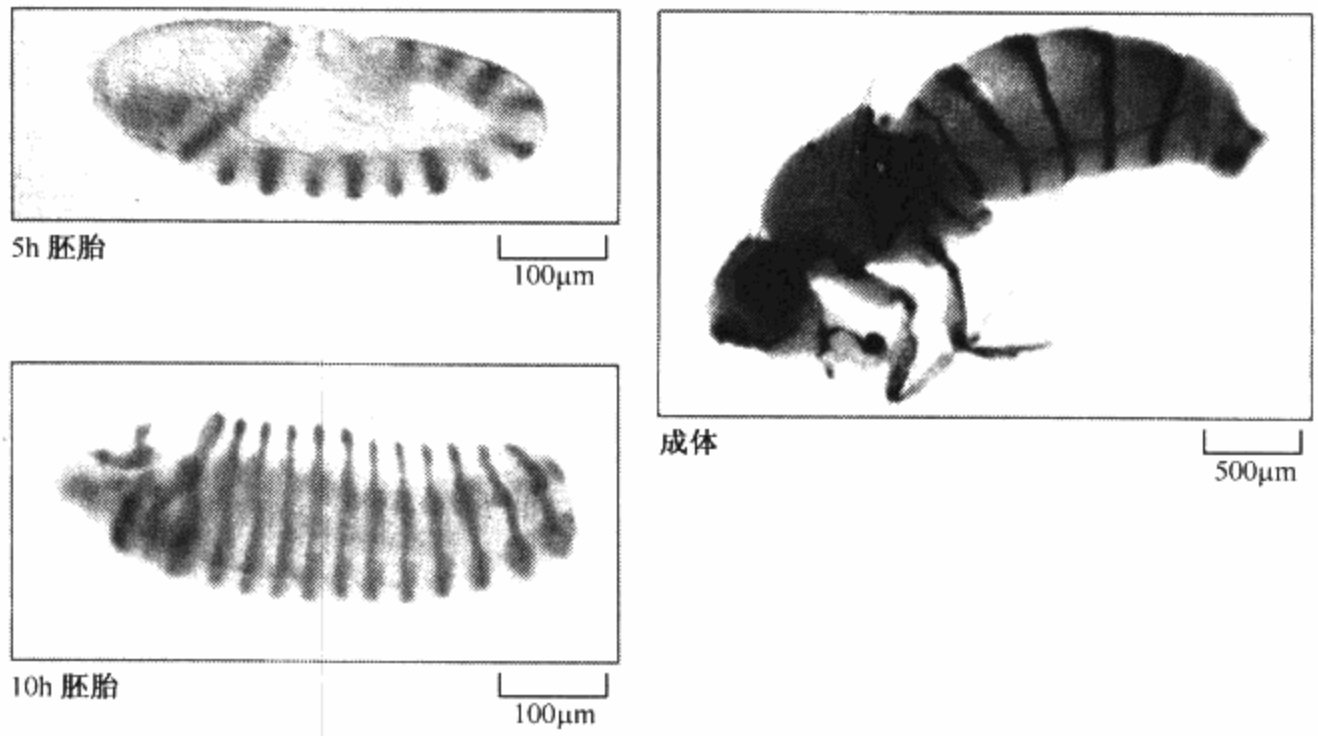


图 21-40　*engrailed* 体节极性基因的表达图案

图中显示了 5h 胚胎、10h 胚胎和成体果蝇的 *engrailed* 表达图案。5h 和 10h 胚胎通过抗体染色显示表达图案。成体果蝇通过构造 *engrailed* 的调控序列和 *LacZ* 报道基因显示其表达图案。结果显示，*engrailed* 在整个生活周期都有表达

除了控制体节极性基因外，成对控制基因产物和间隙基因产物还一起激活了空间标记——同源异型选择基因。正是这些同源异型选择基因将副体节相互区分。下面我们将会详细介绍这些基因并阐述它们在细胞记忆性方面的作用。

小结

果蝇是研究动物发育遗传学的最著名的模式生物。与其他昆虫一样，它的发育开始于一系列细胞核分裂产生的多核体细胞开始，并在这一多核体时期发生了许多早期图案形成过程。图案的形成是从卵细胞的不对称开始，并受到卵内 mRNA 分布不同和周围滤泡细胞信号影响。多核胚胎的位置信息是由 4 组母源效应基因的浓度梯度决定的。这些信号控制了动物身体图案 4 个不同的基本方向：背部与腹部、内胚层与中胚层和外胚层、生殖细胞与体细胞、头部和尾部。

卵极性基因通过建立卵细胞核早期胚胎内基因调控蛋白逐级浓度梯度来行使功能。沿前后轴的浓度梯度顺序起始了间隙基因、成对控制基因、体节极性基因和同源异型选择基因的表达。它们通过一系列的相互作用，最终只在胚胎的某些区域表达，并将胚盘分为一系列重复模块——体节。基因表达的复杂图案影响了调控 DNA 序列的模块化组织，每个基因的增

强子都与其特定的表达图案有关。

体节极性基因在体节化的后期开始行使作用，在合胞体后开始向特定的细胞聚集，并通过 Wnt 和 Hedgehog 等细胞-细胞间信号控制每个体节的内部图案形成。这些都激活了 *engrailed* 等基因的持续表达，并使得细胞对其在体节内的前后位置有了长期的记忆性。同时，沿背腹轴也建立了一个新的细胞-细胞间信号浓度梯度，TGFβ 家族的 Dpp 和其拮抗物——short gastrulation。这个浓度梯度使得在不同背腹区域的细胞具有了不同特征。其同源蛋白同样也控制了脊椎动物背腹轴的图案形成。

同源选择基因和前后轴的图案形成

随着发育的进行，身体变得越来越复杂。但在这些复杂中我们可以发现简单的特征来让我们了解整个发育过程。一次又一次地，在所有物种和发育的任何阶段，我们都能发现复杂的结构是由一些最简单的原理稍加变化重复而产生的。数量有限的基本分化后细胞类型，如肌肉细胞和成纤维细胞，在不同的位点只是有很小的变化。这些细胞又通过微小的变化组成有限种类的组织，如肌肉、肌腱等都在身体的不同部位重复出现。通过这些不同的组织形成了器官，例如，牙齿是由臼齿和门牙组成的，趾是由手指、拇指和脚趾组成的，这些都是由一些基本结构发生微小变化并重复产生的。

当我们发现这一可调整性重复的现象后，我们就可以将发育生物学家的问题分成两类：什么是不同物种都有的最基本的构造机制？这些机制是怎样发生改变而各自不同的呢？胚胎组装策略来产生它的复杂性，我们也可以用组装策略来理解这一过程。

昆虫身体的体节就为我们提供了一个很好的例子。我们初步了解了单个体节构造的方式，还必须考虑每个体节是怎样和其他体节区分的。

HOX 决定了前后的不同

第一次通过遗传学知道每个体节如何获得其特性是在 80 年前，发现了许多成体果蝇组织发生紊乱的突变体。例如，腿可以在头部替代了触角长出（图 21-41），而在双胸突变体中，原本应该是平衡棒的位置长出了另一对翅。这些突变体都将身体的一些部分长在了其他位置。**同源选择基因**决定了果蝇体节的前后轴特征。

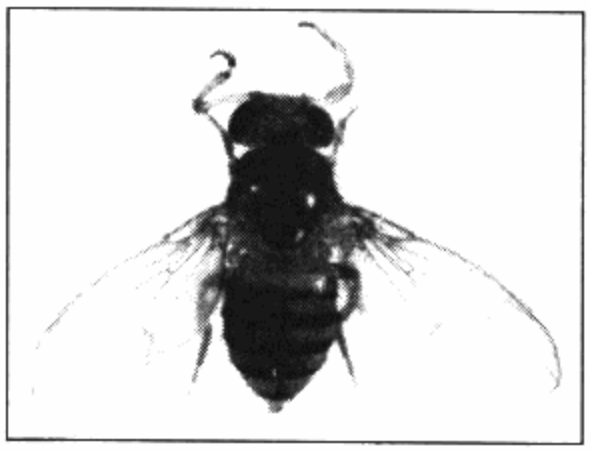


图 21-41　同源异型突变

图中果蝇为触角突变。通过改变 Antennapedia 基因的调控序列使其在头部表达后，触角的位置被腿替代（经 Matthew Scott 许可）

果蝇中的 8 个这样的基因组成了一个相互联系的家族。它们组成了两个紧密的基因簇——**双胸复合物**和**触角足复合物**。双胸复合物的基因控制胸部和腹部体节的不同，而触角足复合物的基因控制胸部和头部体节的不同。通过与其他物种的同源性比较发现，它们几乎存在于包括人类在内的所有重要物种中。通过比较还发现，双胸复合物和触角足复合物是一个完整的**同源复合物**分开而来的。这个控制全部从头到尾身体图案的复合物在果蝇的进化中发生了分裂。

同源选择基因编码了 DNA 结合蛋白并与其他基因调控蛋白相互作用

每个同源选择基因的突变或缺失都只能导致其表达区域的发育不正常。所以这些基因的

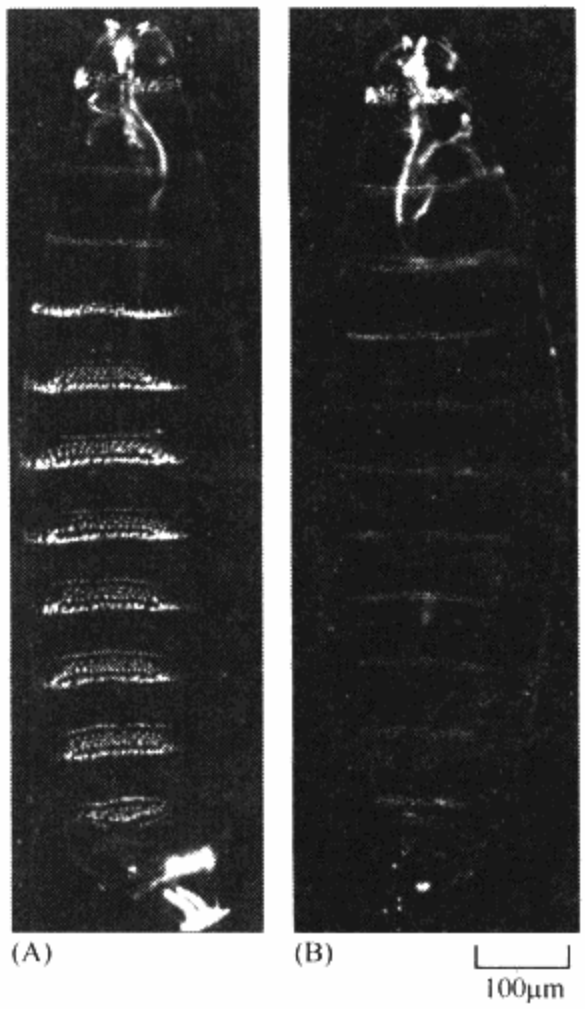


图 21-42　删除双胸复合物上大部分基因后的效果

（A）正常的果蝇幼虫。（B）双胸复合物突变后幼虫。突变体中 P5 副体节后的全部成为了 P5 副体节

产物就可以被认为是每个副体节内细胞的位置标签。它们就是细胞位置的具体化形式。如果这些位置标签发生了改变，即使副体节位置发生改变，其行为也不变，如果整个复合物都发生缺失将导致所有的体节都很相似（图 21-42）。

如果这些同源选择基因产物的 DNA 结合区域都相似，那么它们是怎样形式不同的功能来促使每个副体节与其他区分开的呢？答案是哪些与 DNA 结合复合物中其他蛋白质相互作用的非 DNA 结合区域。这些复合物与同源选择基因一起决定结合到哪些 DNA 结合位点并对其行使促进还是抑制的功能。通过这种方法，同源选择基因与其他基因调控蛋白一起协调决定每个副体节的特征。

同源选择基因按照其在 HOX 复合物中的顺序表达

为了了解同源复合物是怎样为细胞提供位置信号的，我们同样需要知道这些同源选择基因本身的表达是怎样被调控的。

这 8 个同源选择基因的编码序列散布在一个较大的范围内——大约 650 000 个碱基对的调控 DNA 序列中，这些 DNA 调控序列就包括了卵极性基因和分节基因的结合位点。同源复合物中的调控序列就可以将基因调控蛋白中的位置信息表现出来，同时特定的同源选择基因在特定的位置就被转录。

控制的图案也有明显的规律性。无论是双胸复合物还是触角足复合物，基因在染色体上的位置顺序都与预期在胚胎中的表达顺序完全一致（图 21-43）。这就表明这些基因是被沿胚胎体轴的持续而强烈的多级过程连续激活的，这些过程沿染色体扩展开。细胞中最先表达的基因往往具有主导地位，能够激活早期基因的表达并决定体节的特征。这一现象的基因调控机制尚不清楚，但其结果却有深远的意义。我们发现同源复合物中基因的顺序表达在进化过程中具有一个高度保守的基本特征。

在果蝇的基因组中还有许多其他数以百计的含有 *homebox* 的基因。但它们分散开，并不聚集在同源复合物上。它们具有不同的基因调控功能，但有一部分却有与同源异型基因类似的功能，它们控制着许多基本的发育生物学主题。例如，不同类型的神经细胞，通常是通过表达这一大家族中的不同成员来相互区分的。

同源异型复合物长期记忆其位置信息

同源异型复合物基因的空间表达图案是由早期发育信号建立的，但其作用却持续了很长的时间，虽然随着发育的进行，表达图案进行了复杂的调节，但每个细胞中同源异型复合物对其在早期胚胎的前后位置具有永久记忆性。通过这种方式，每个体节的细胞都对其沿身体前后轴的位置效应具有长期记忆性。也就是说，有个前后位置值。随后我们将提到同源异型

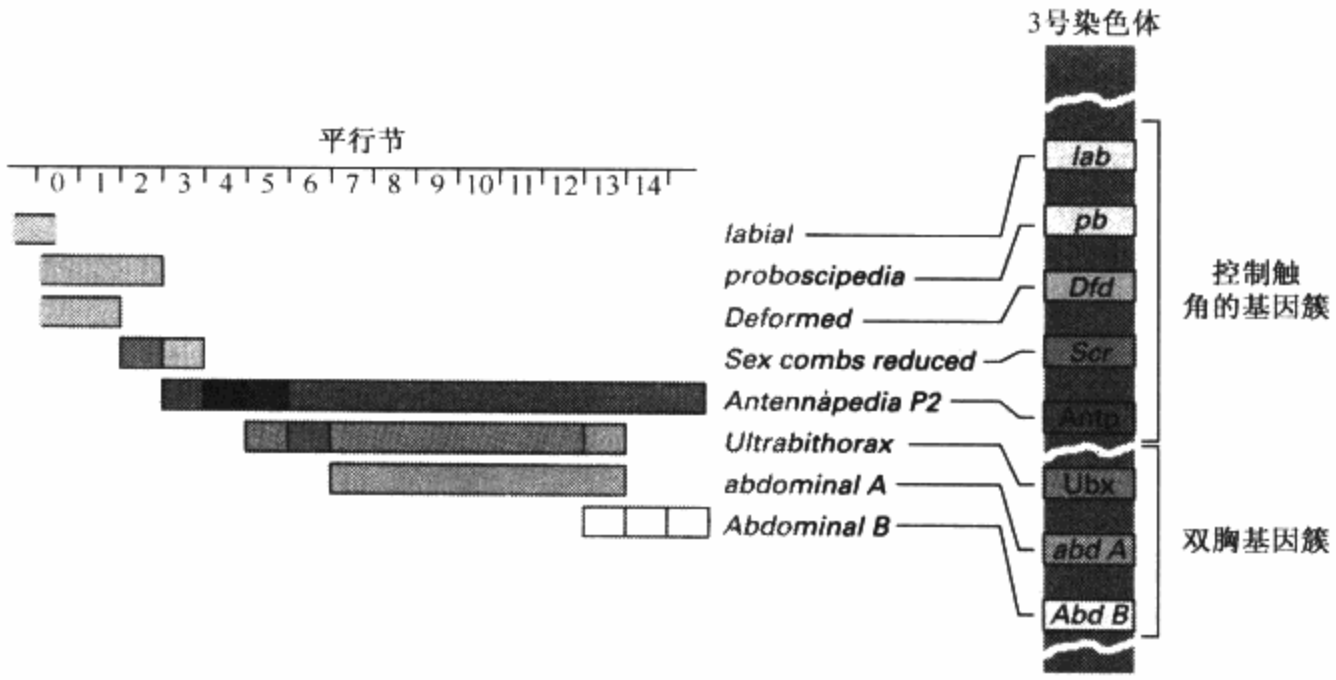


图 21-43　Hox 基因在染色体位置与其表达图案相对应

两个复合物上基因的排列顺序和其表达顺序都是对应的。大部分基因在一个体节中有明显表达而在其他体节中表达很少。如果两个基因的表达区域重叠，那么表达靠后的基因决定其表型。下图显示了受精后 5h 的基因表达图案

复合物的这一记忆性不仅负责组织幼虫体节的特异性，也负责组织成虫体表结构的特异性。这些体表结构是由幼虫成虫盘和成虫盘附近体细胞在发育晚期形成的。

细胞位置信息的记忆性的分子机制依赖于两种调控输入。其一是同源选择基因自己。许多同源异型基因自己激活自己的转录。另一个重要的输入是两个大的互补转录调控元件——Polycomb group 和 Trithorax group。如果这两个调控元件失活，同源异型基因的表达图案可以在发育早期建立，但不能在发育后期正常维持下去。

这两个调控元件以相反的方式行使功能。Trithorax group 蛋白主要负责在那些转录已经激活的细胞中维持同源异型基因的转录。而 Polycomb group 则形成稳定的复合物结合到同源

异型复合物的染色体上，维持那些同源异型基因的失活状态（图 21-44）。发育的记忆性还包括将同源异型基因周围的特定转录位点的组蛋白 H4 乙酰基化。Polycomb group 和 Trithorax group 蛋白在同源异型基因被转录的情况下可以维持 H4 的高度乙酰基化，而在同源异型基因不转录的情况下维持 H4 的去乙酰基化（图 4-48）。

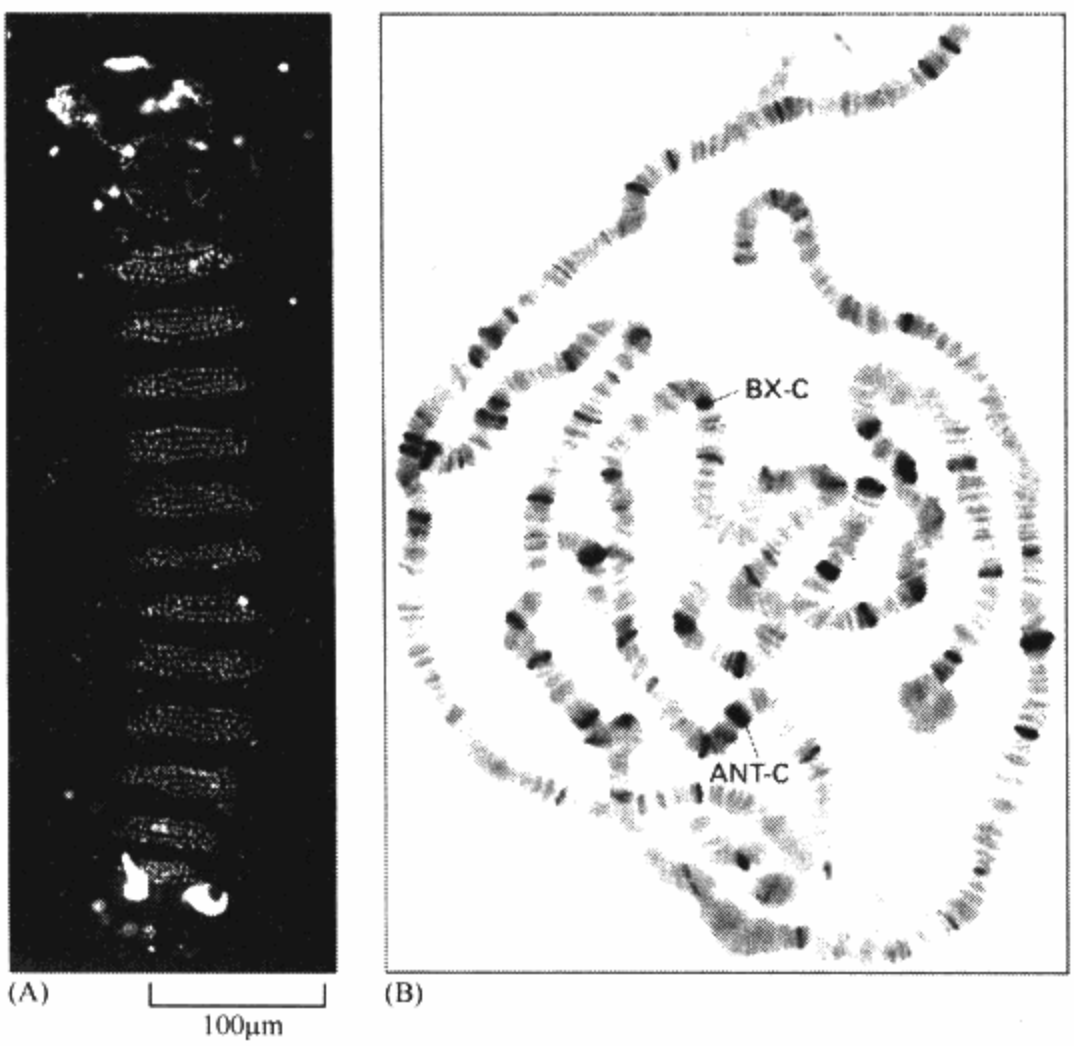


图 21-44　Polycomb group 基因的激活

（A）中所示为 *esc* 基因突变的胚胎表型。Esc 属于 Polycomb group。所有的体节都和最后一个体节相似（与图 21-42 比较）。同源选择基因不能够稳定表达，它们沿着体轴随机表达。（B）Polycomb 蛋白结合在果蝇巨大染色体上。其蛋白质结合在了双胸复合物和触角足复合物以及其他大约 60 个位点上

脊椎动物中的同源异型选择基因也控制前后体轴

果蝇中的同源异型选择基因在其他各个物种中也发现了同源物，如腔肠动物、线形动物、软体动物和哺乳动物。这些基因和昆虫的同源异型复合物一样，也聚集成复合物。在小鼠中有 4 个复合物——HoxA、HoxB、HoxC 和 HoxD 复合物，每个都在不同的染色体上。通过序列比对，每个复合物的每个基因都能在果蝇中找到对应基因。实际上，哺乳动物的 Hox 基因可以在果蝇中部分替代果蝇同源异型基因的功能。也就是说，哺乳动物的这 4 个复合物等价于昆虫的整个复合物，即触角足复合物加上双胸复合物（图 21-45）。

每个脊椎动物同源异型复合物上基因的排列顺序也和昆虫同源异型基因的一致。这表明所有 4 个脊椎动物复合物是由一个共同的原始复合物复制而来的，并且保留了其原始的组织形式。如果用原位杂交来检测脊椎动物同源异型基因的表达图案，我们发现每个复合物上的基因就和果蝇中的一样，沿着前后轴从头到尾的顺序表达（图 21-46）。这一现象在神经管发育中最为明显，但也能在其他组织如中胚层中看到。每个复合物上基因的表达顺序都与预期在染色体上的顺序一致，并且都在前后轴上特定的区域表达。

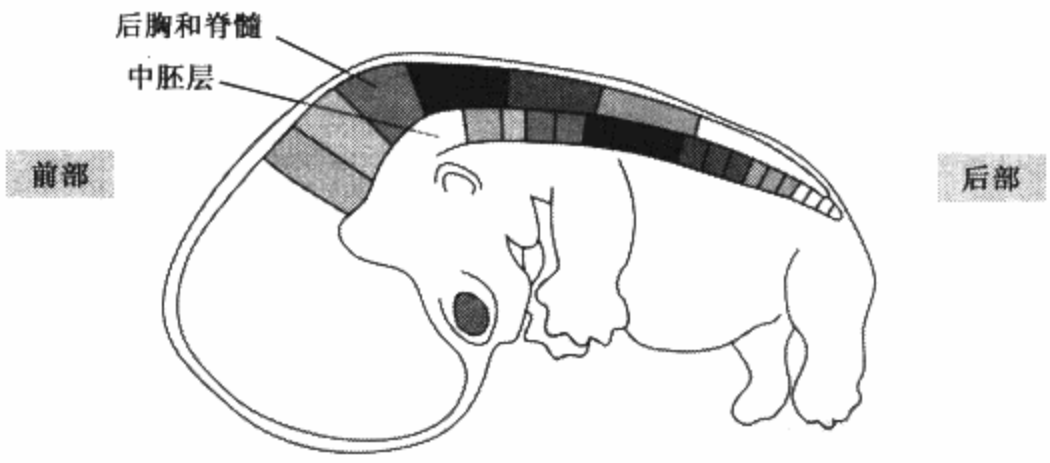


图 21-45　昆虫的同源复合物与哺乳动物同源复合物的比较

上排为果蝇触角足复合物和双胸复合物中的基因，它们按照在染色体上的位置顺序排列。下排为哺乳动物中对应的4个复合物，它们也是按照其在染色体的位置来排列的

基因表达区域显示了昆虫身体区域和脊椎动物身体区域的对应关系（图 21-45）。果蝇的副体节对应于脊椎动物胚胎前部分的体节。如图 21-47 所示，这些在被称为 rhombomeres 的后脑区域界限最为明显。在后脑后部的组织中可以看到，在所有脊椎动物都很明显的一系列 branchial arch 的体节，它们是鱼鳃的前体和哺乳动物颚和颈的前体。每一对后脑的 rhomobomeres 对应一个 branchial arch（图 21-24）。和果蝇一样，后脑每个同源异型基因的表达区域界限与解剖学的体节界限是一致的。

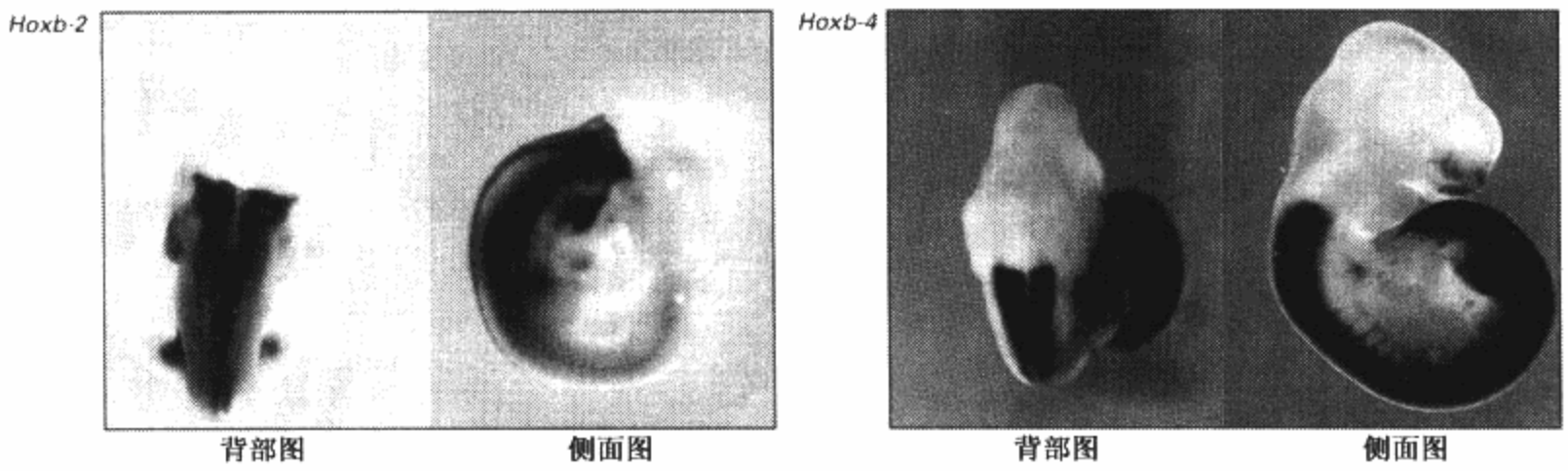


图 21-46　小鼠中 Hox 基因的表达结构域

图中所示为 HoxB 复合物中两个基因的表达图案。通过原位杂交或者构造含有 Hox 基因调控序列和 *LacZ* 报道基因的转基因果蝇来显示这些区域。每个基因表达在一个前端明显的长形区域内。基因在复合物中的位置靠前，其表达区域也靠前。所以，基因按照在染色体复合物上的顺序来表达（经 Robb Krumlauf 许可）

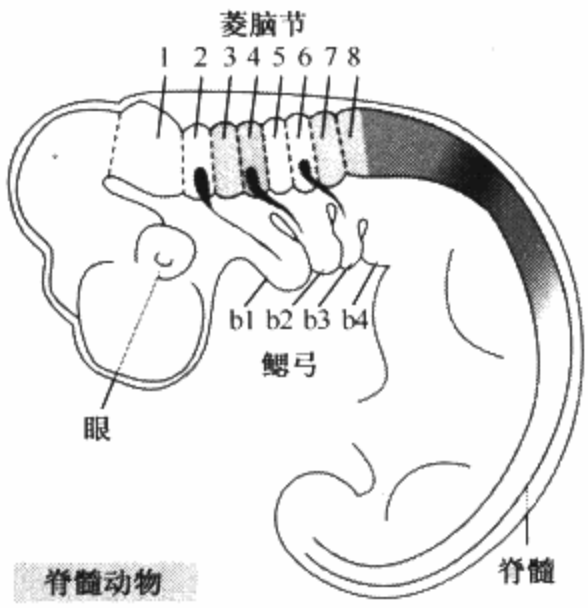


图 21-47　后脑中的分节基因和同源异型选择基因

图中所示为 HoxB 的表达图案。为了简化，只显示在中央神经系统中的表达。在两个或多个 Hox 基因的表达区域，只显示最先表达的基因。就和果蝇中表达区域和副体节对应一样，脊椎动物中的表达区域和后脑的分节也是对应的。每个脑节都向外伸出神经元。在脊索中没有分节，所以 Hox 基因的表达区域重叠

哺乳动物同源异型基因产物具有特异的位置值，控制后脑、颈部和躯干的前后轴图案。小鼠中缺失同源异型基因的功能将导致对应于此基因表达区域的身体部分缺失。有时，如在果蝇中一样，身体的某些区域可能成为更靠前的身体区域。有时则使得某些身体区域死亡或不能生长。小鼠同源异型基因突变造成的移植现象并不明显，可能与小鼠中同源基因的冗余有关。但有一点可以确认，小鼠和果蝇利用相似的分子机制来控制沿身体前后轴每一特定区域的特征。

小结

动物复杂的成体是一些基本类型的结构经过调整建立起来的。基因表达图案具有层次性，并在每个体节都有重复。一系列同源异型选择基因的表达赋予了每个体节不同的特征。同源异型选择基因编码了 DNA 结合蛋白。它们在果蝇基因组中分为两簇——双胸复合物和触角足复合物，它们被认为是果蝇进化中一个祖先复合物的两个部分。在每个复合物中，它们按照沿身体前后轴的顺序排列在染色体上。同源异型基因在胚胎期开始表达，并被 Polycomb group 和 Trithorax group 的 DNA 结合蛋白维持。它们能够记忆胚胎期同源异型基因的状态。与果蝇同源的同源异型复合物在其他的不同物种中都有发现，它们在决定身体前后轴的功能上都十分保守。哺乳动物具有 4 个同源异型复合物，每个复合物中基因在染色体上的排列顺序都对应于它们沿身体的表达顺序。

器官发生和附肢形成

我们知道，昆虫幼虫体节有同样的基本原理，但却又各不相同，分节基因将身体分为相同

的区块，而同源异型选择基因赋予每个体节不同的特征。这一原理同样在昆虫成体适用——包括腿、翅、触角、口器和外生殖器。它们也在一个基本原理的基础上发生变化。下面我们将讲述，附肢以及其他的身体部分，都是由遵循一些基本的进化保守的原理的亚结构组成的。

本部分我们将介绍果蝇的发育过程，我们只重点介绍每一步相关结构中的一个例子。与前面相同，我们将发育类似的结构，这一类似不仅仅是相同的策略，而且是相同的分子机制。在此之前，我们首先要介绍一些重要的实验方法，它们可以解释我们在研究晚期发育中基因作用时的问题。

条件诱导的体细胞突变使我们能够研究发育晚期的基因功能

正如我们前面所述，在许多不同的情况下（不同的身体区域、不同的发育时期）同一个基因可以被重复利用，通常，基因缺失突变会导致胚胎或幼虫的死亡，使得我们无法了解这些突变怎样影响晚期发育。

解决这一问题的一个办法就是研究条件性的突变。例如，我们有一个研究基因的温度敏感型突变，我们可以在发育的早期保持较低的温度，此时的基因产物是正常的。然后我们升高温度就可以破坏基因产物从而来研究其在发育后期的功能。

还有其他一些方法来改变发育后期某些细胞的 DNA——一种单个细胞的遗传学的外科手术，可以在发育的特定时期在某类特定的细胞产生突变。这一技术可以通过构造可诱导的体细胞重组来的完成。目前，这一技术主要用于转基因果蝇，这些果蝇都含有两个酵母中的遗传学元件——FLP 位点特异性重组基因和 FLP 重组位点（FRT）。通常，果蝇是纯合体，在特定染色体着丝粒的附近有 FRT 序列，而在热激起动子下的 FLP 被插入到基因组的其他位置。如果这样的转基因胚胎或者幼虫被热激后，FLP 就会在母源和父源染色体的 FRT 位点发生同源重组。如果热激足够温和，这些就只会在某个或某些细胞中发生。如图 21-48 所示，如果仍是杂合子，这一过程可以产生两个纯合子的后代，一个获得了母源的两个拷贝的基因，一个获得了父源的两个拷贝的基因。这两个子代细胞都会正常生长并产生纯合子后代。

除了用热激起动子激活 FLP 重组酶外，我们还可以利用那些在果蝇基因组中的在特定时间和位置表达的调控序列。这样就只会在基因应当表达的位置出现发生重组和突变的细胞。大部分的技术都是利用酵母中的转录调控机制来控制果蝇基因表达的（图 21-49）。

通过这些方法控制基因在特定时间和位置的表达或不表达，发育生物学家就可以研究那些控制任何身体器官的特定信号或反应。

成体果蝇的身体是由成虫盘发育而来

成体果蝇的复制是从成虫盘发育而来，**成虫盘**是幼虫每个体节中一组未分化的细胞，由上皮细胞包裹，形状像有皱褶的气球，并与幼虫的表皮相连。总共 19 个成虫盘包括分布在身体两侧的 9 对和中间的 1 个（图 21-50）。它们随着幼虫的发育生长并具有自己的内部图案，并在蛹期分化并成为成体的附肢。眼和触角是由一对成虫盘发育来的，翅和胸的一部分由另一对发育而来，第一对足也是由另一对成虫盘发育而来。

同源异型选择基因对成虫盘的位置信息记忆具有重要作用

每个成虫盘的细胞都很相似，但大量试验结果表明它们命运早已被决定。如果一个成虫盘被移植到幼虫的另一个成虫盘上，并且发育到蛹期，被移植的成虫盘仍会向其原本的器官分化——翅成虫盘会成为翅，平衡棒成虫盘会成为平衡棒。这表明成虫盘对其原来位置具有记忆

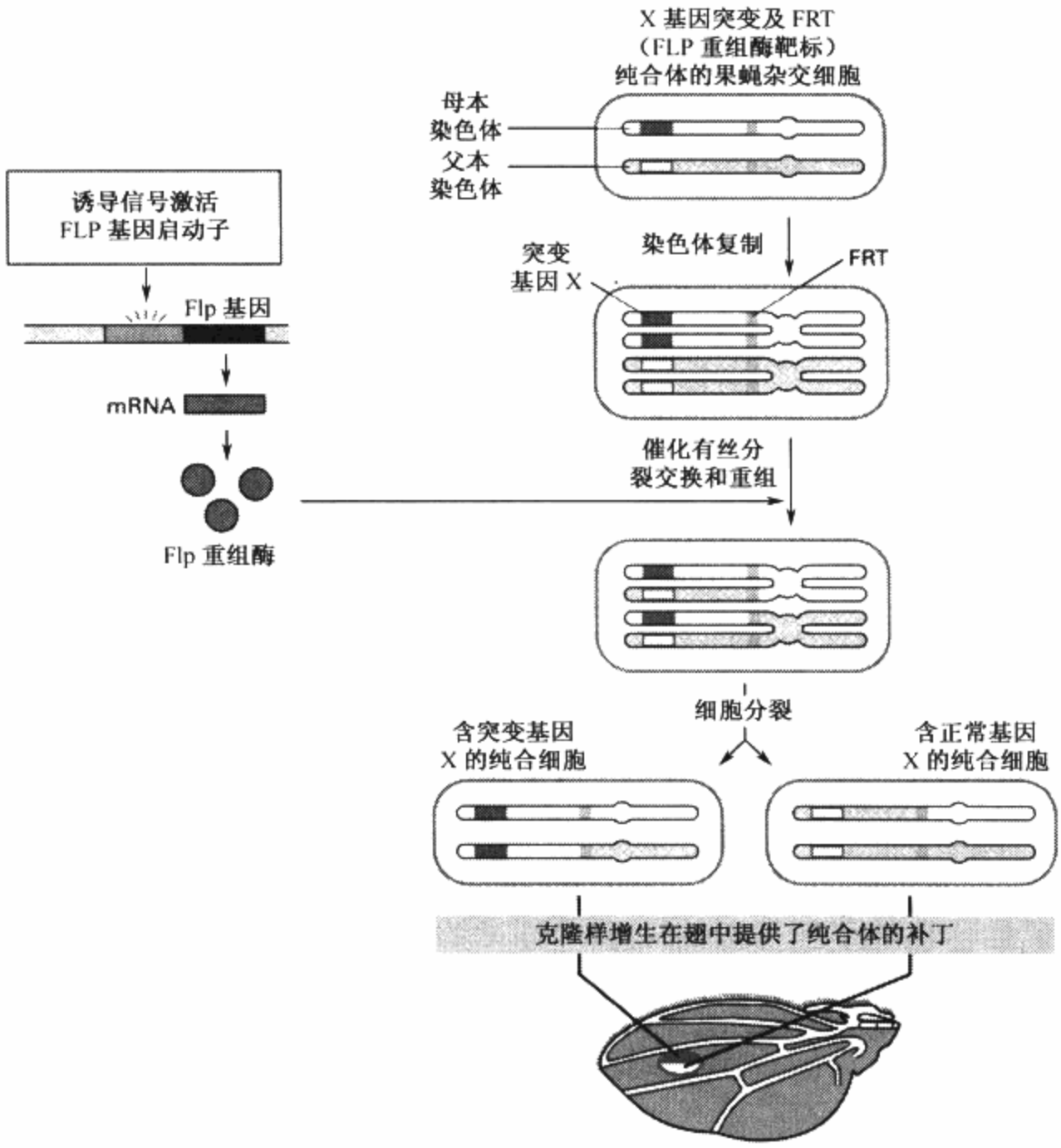


图 21-48　通过诱导体细胞重组构造突变细胞

图中所示为一对同源染色体，一条来自于父本，一条来自于母本。这些染色体在着丝粒附近有一个 FRT 位点，并且在同一条染色体臂上有我们研究的基因 X。父本的染色体上是野生型的基因，母本的染色体上是隐性突变的基因。利用 FLP 重组酶就可以将两条染色体重组，产生含有两个野生型和两个突变的后代。为了更好地找出发生重组的细胞，通常在父本或母本的染色体上还有一个可见的标记基因，如色素基因。当标记基因发生重组，细胞就会有可见的表型，那么 X 基因也就发生了重组

性。如果将成虫盘细胞在分化前增殖，我们发现细胞的数目增多，但都继承了细胞的记忆性。

同源异型选择基因对这一记忆机制具有重要作用。在蛹期分化前的任何时期，那些本来要在成虫盘细胞中表达的同源异型选择基因被通过体细胞重组而除去后，这些细胞就会分化成错误的结构。这一实验表明成虫盘细胞位置记忆性依赖于同源异型选择基因的表达。这一记忆性也具有细胞自主特性——每个细胞依赖于自己的历史和基因组来决定自己的状态。

特定的调控基因决定将要发育为附肢的细胞

我们必须解释一个附肢是怎样形成其内部图案的，我们以昆虫的翅为例。

这一过程随着早期图案建立而发生。前后轴和背腹轴信号系统将囊胚按照前后轴、背腹轴和分节基因表达边界进行了垂直的划分。在这些边界的内部，基因表达的组合就使得一些细胞成为了成虫盘细胞。

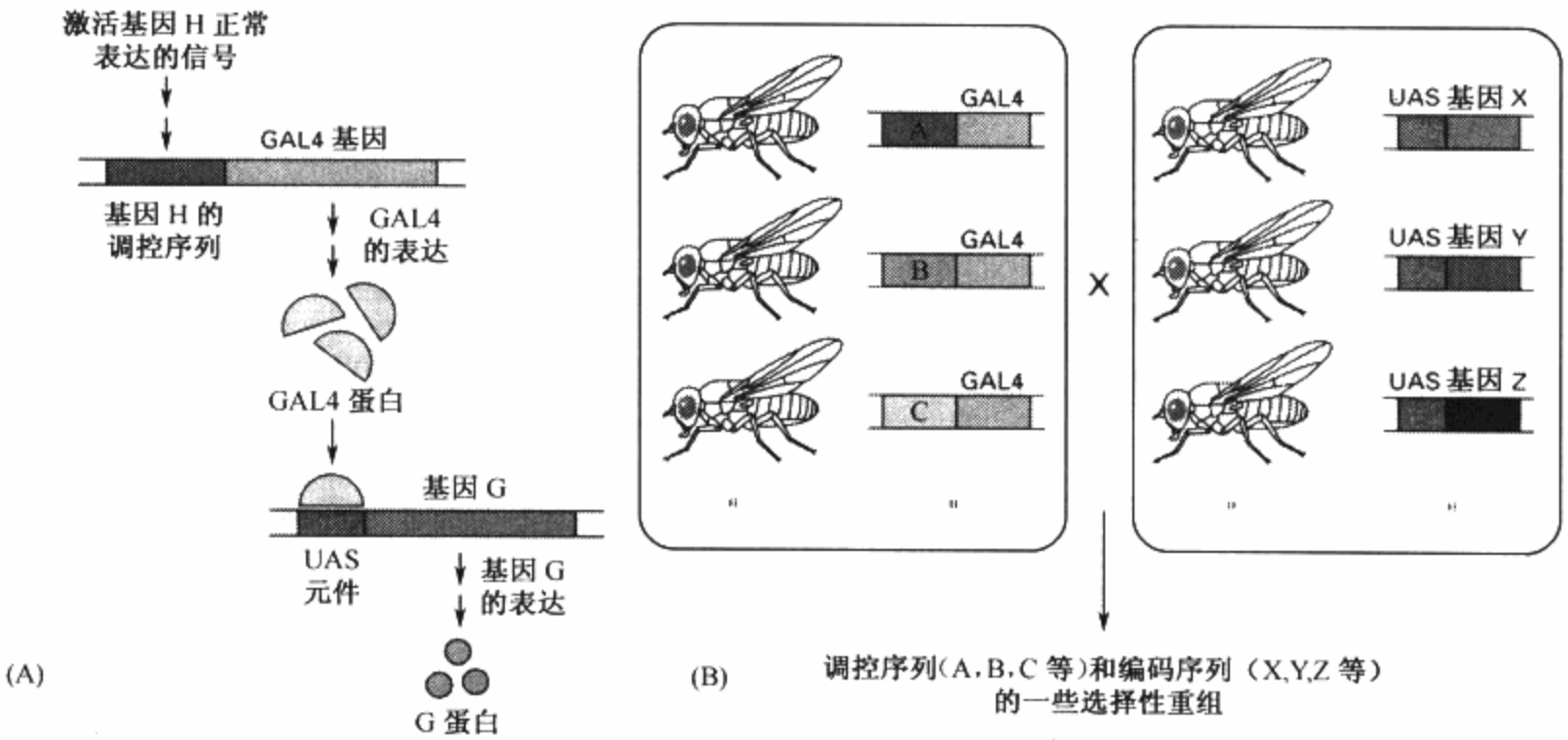


图 21-49　在果蝇中通过 GAL4/UAS 系统来控制基因异位表达

通过这一方法，我们可以在 H 基因正常表达的情况下，过量表达特异性 G 基因。(A) 构造两个转基因果蝇，一个含有酵母特异性调控序列 UAS 并与特异基因 G 相连，另一个含有受 H 基因调控序列调控的酵母 *GAL4* 基因，它可以结合到 UAS 序列，这样在 H 基因正常表达的区域就可以表达 *G* 基因。(B) 虽然我们可以直接将 H 基因的调控序列与 *G* 基因连接，但 GAL4/UAS 更方便。有两个独立的转基因果蝇库，一个是 GAL4 受不同 A、B、C 基因调控序列调控的果蝇库，一个是 UAS 连接 X、Y、Z 基因序列的果蝇库。将一种果蝇与另一个库中的其他果蝇交配，编码序列就可以被不同调控序列调控

为了构造 GAL4 插入不同位置的果蝇库，我们首先构造 GAL4 插入不同基因组位置的果蝇，然后与含有 UAS 报道基因的果蝇杂交。当 GAL4 插入了特定增强子区域时，报道基因就会表达，那些比较有趣的表达图案果蝇就被继续研究。这一方法就是增强子捕获法，通过这一方法我们就可以找出基因组中的调控序列

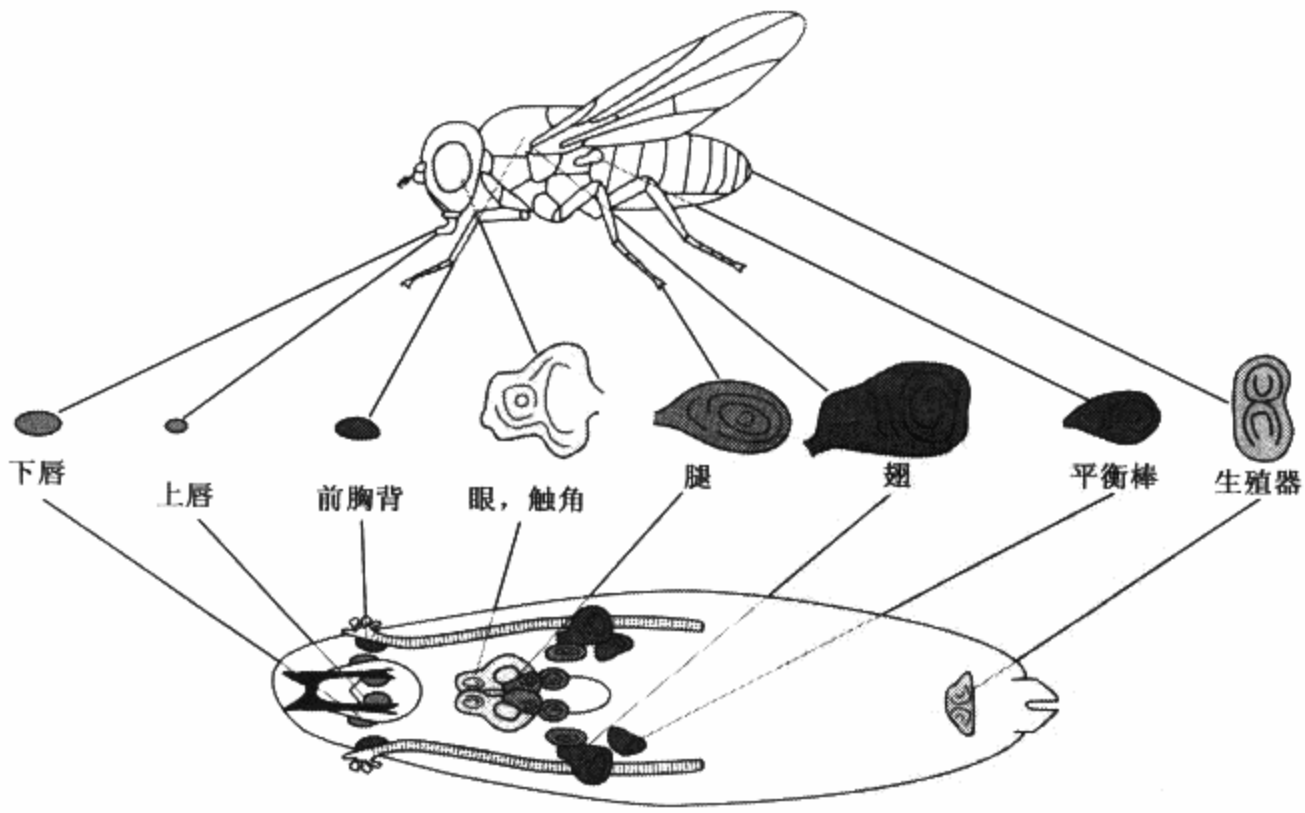


图 21-50　果蝇幼虫的成虫盘和其对应的成体果蝇结构

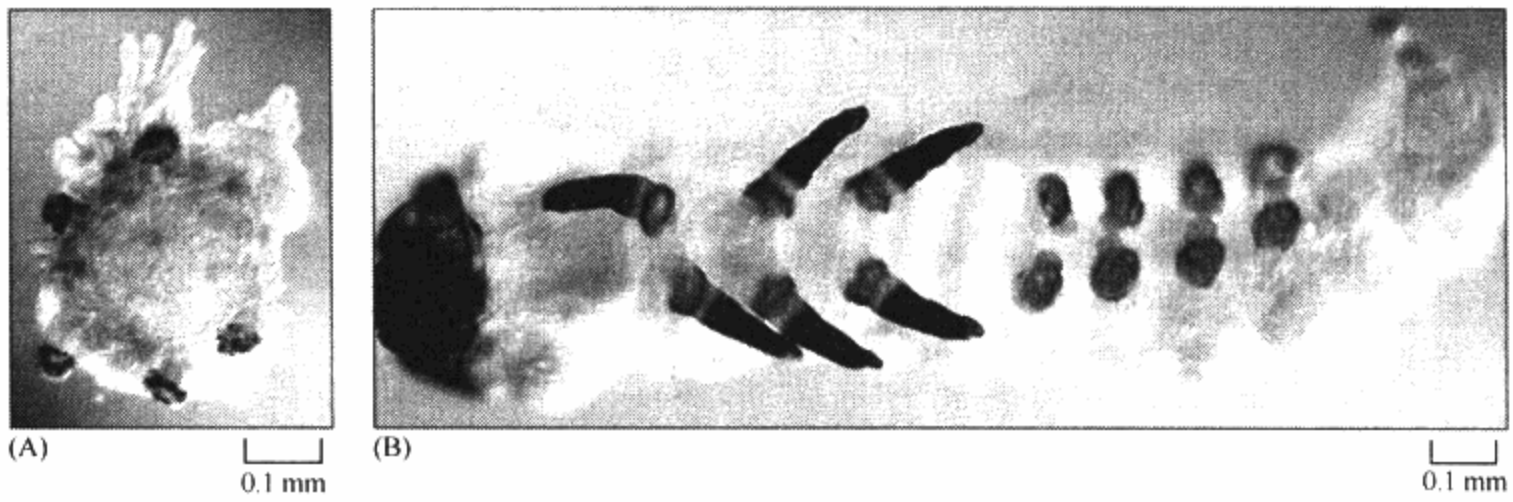


图 21-51　Distal-less 在腿发育过程中的表达

（A）海胆幼虫；（B）蛾幼虫

这一过程依赖于成虫盘决定基因的表达。在大部分成虫盘中都表达 Distal-less 基因，其编码的可以维持生长的基因调控蛋白对象腿和触角这样的器官生长是必需的。如果缺失这一基因，就不能形成这些附肢。如果其表达位置改变，就会出现位置错误的附肢。在研究过的大部分脊椎动物和无脊椎动物中，Distal-less 基因都以相似的方式表达（图 21-51）。在眼成虫盘中，另一个基因 eyeless 具有决定作用，其具有同源功能的同源物——Pax-6 基因在其他物种中也诱导眼的发育。

昆虫翅成虫盘的分块现象

从一开始，成虫盘细胞就开始发育其内部图案。例如，翅成虫盘的后半部分细胞表达体节极性基因 *engrailed*，而前半部分却不表达。就如同卵和胚胎一样，这一不对称性促使了更具体图案的形成。

早期翅成虫盘中基因表达不同分化的区域就对应于成体翅的不同部位。后部表达 *engrailed* 基因的区域就会成为翅的后半部分，而不表达的区域就会成为翅的前半部分。同时，翅的背部将表达 *apterous* 基因，而腹部却不表达。在蛹期，成虫盘沿划分这些区域的线开始折叠，表达 *apterous* 的区域就成为了翅的背部，而不表达的区域就成为翅的腹部。而这两个表皮层连接的区域依赖于 *apterous* 在成虫盘中的表达边界（图 21-52）。

成虫盘细胞开始表达那些可以标记它们前后、背腹的特异性基因，并在生长和发育过程中维持这些基因的表达。由于细胞对这些不同和周围环境都很敏感，所以在这 4 种不同的细胞间形成了明显的界限。这 4 部分就被称为 4 个分区，它们彼此间没有细胞交换（图 21-53）。

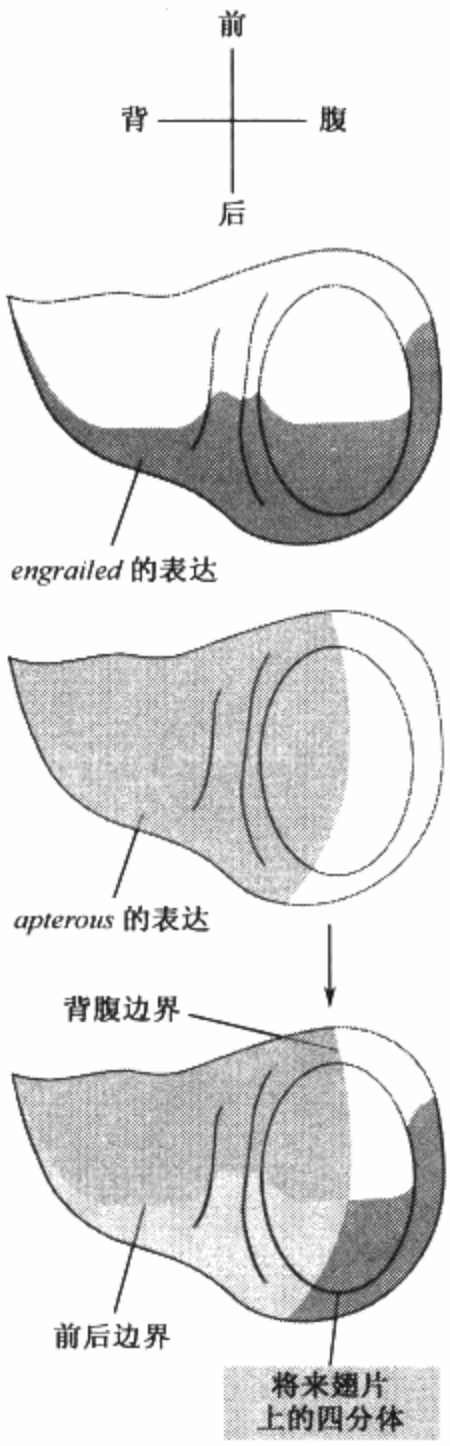


图 21-52　翅成虫盘的基因表达区域决定未来翅的区域性

翅脉由 oval 形状区域形成，并通过 *opterous* 和 *engrailed* 的表达将翅分为 4 个区域。

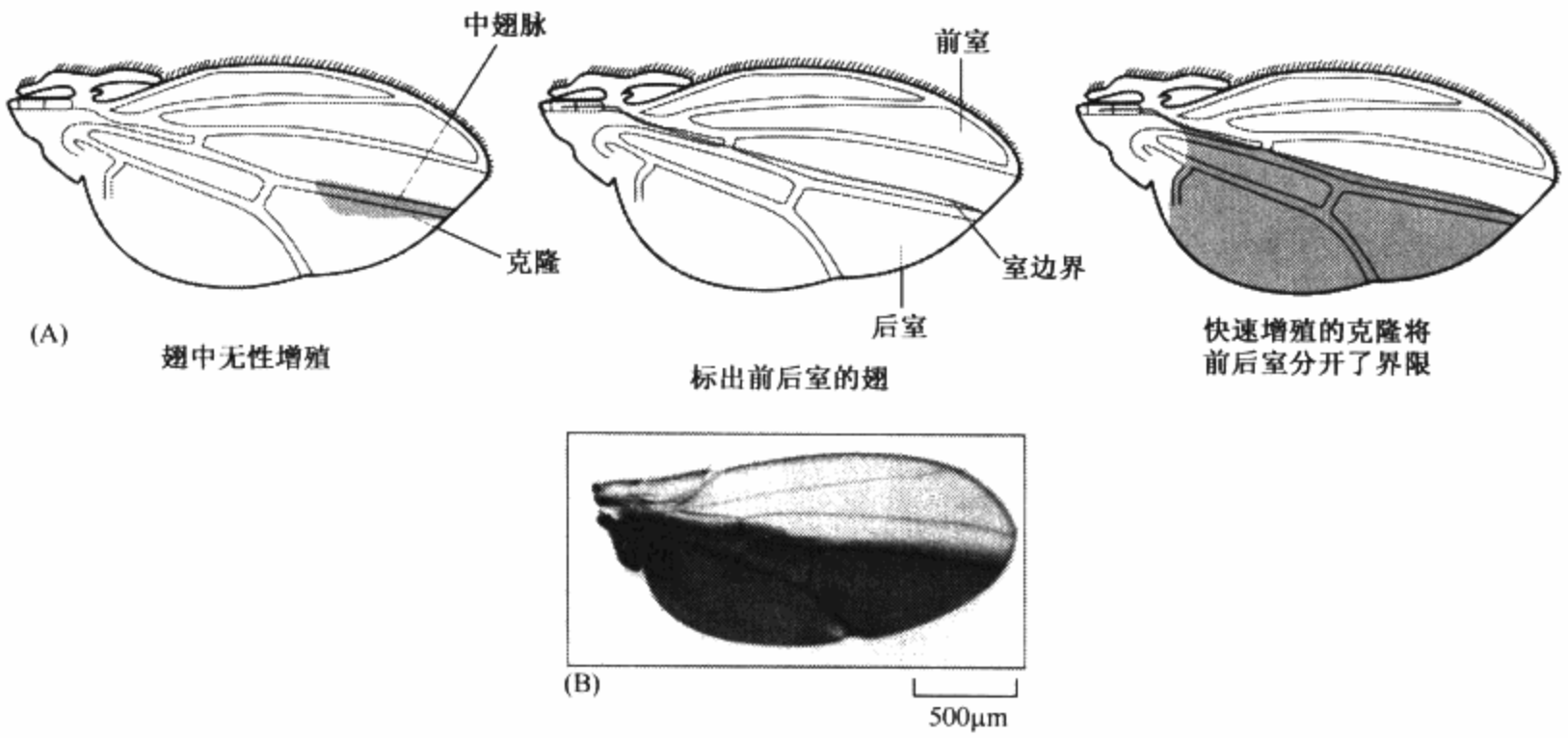


图 21-53　成虫翅的组成部分

（A）图中显示了果蝇翅不同部分间的边缘。彼此间的边缘都是直的。当某一部分被遗传学改变后就会比其余部分生长加快，从而体积也大，但同样会产生边界。值得注意的是，边界并不与翅脉完全重合。（B）*engrailed* 基因在翅脉中的表达图案。边界与 *engrailed* 的表达边界重合

4 个重要的信号通路控制翅成虫盘的图案：Wigless、Hedgehog、Dpp 和 Notch

沿着每个分区的边界，即由 *engrailed* 决定的前后边界和由 *apterous* 决定的背腹边界，不同状态下的细胞彼此间相互作用形成了特定细胞的窄带。这些边界细胞产生新的信号来决定随后的生长和附肢具体图案的形成。

翅后部区域表达 Hedgehog 信号蛋白，但不对其响应。而在后部区域的细胞对 Hedgehog 产生响应。因为 Hedgehog 对较短距离的区域才有作用，信号受体通路只在边界前部在代细胞中被激活。这些边界细胞还表达另一个信号分子——Dpp，它在早期胚胎背腹决定中也有作用（图 21-54）。Dpp 按照先前的方式作用聚集在边界细胞外，形成一个形态发生素的浓度梯度来控制进一步图案的形成和基因的表达。

类似的事件也发生在背腹区域的分界上（图 21-54）。在将要成为翅边缘的区域，由 Notch 调控的短距离信号建立了一个较窄的细胞带并产生了另一个形态发生素，Wingless 蛋白-同属于 Wnt 家族，在胚胎体节前后图案形成中行使作用。Dpp 和 Wingless 与其他的信号以及基因共同激活在每个分区中特定基因的表达。

每个分区的大小受细胞间相互作用的调控

动物发育中一个最难理解的事就是生长的控制：为什么身体的每个部分生长到精确的大小？这个问题我们将用果蝇成虫盘为例来解释。通过可诱导的体细胞突变，我们可以产生一些比身体其他细胞生长快的细胞。这个克隆很可能长到它所在的分区那么大，但却不会越过它的边界。它的快速生长并不影响分区的最终大小、形状甚至是内部图案（图 21-53）。分区内的细胞相互作用来决定什么时候它们停止生长，并且每个体节的行为都受到调控。

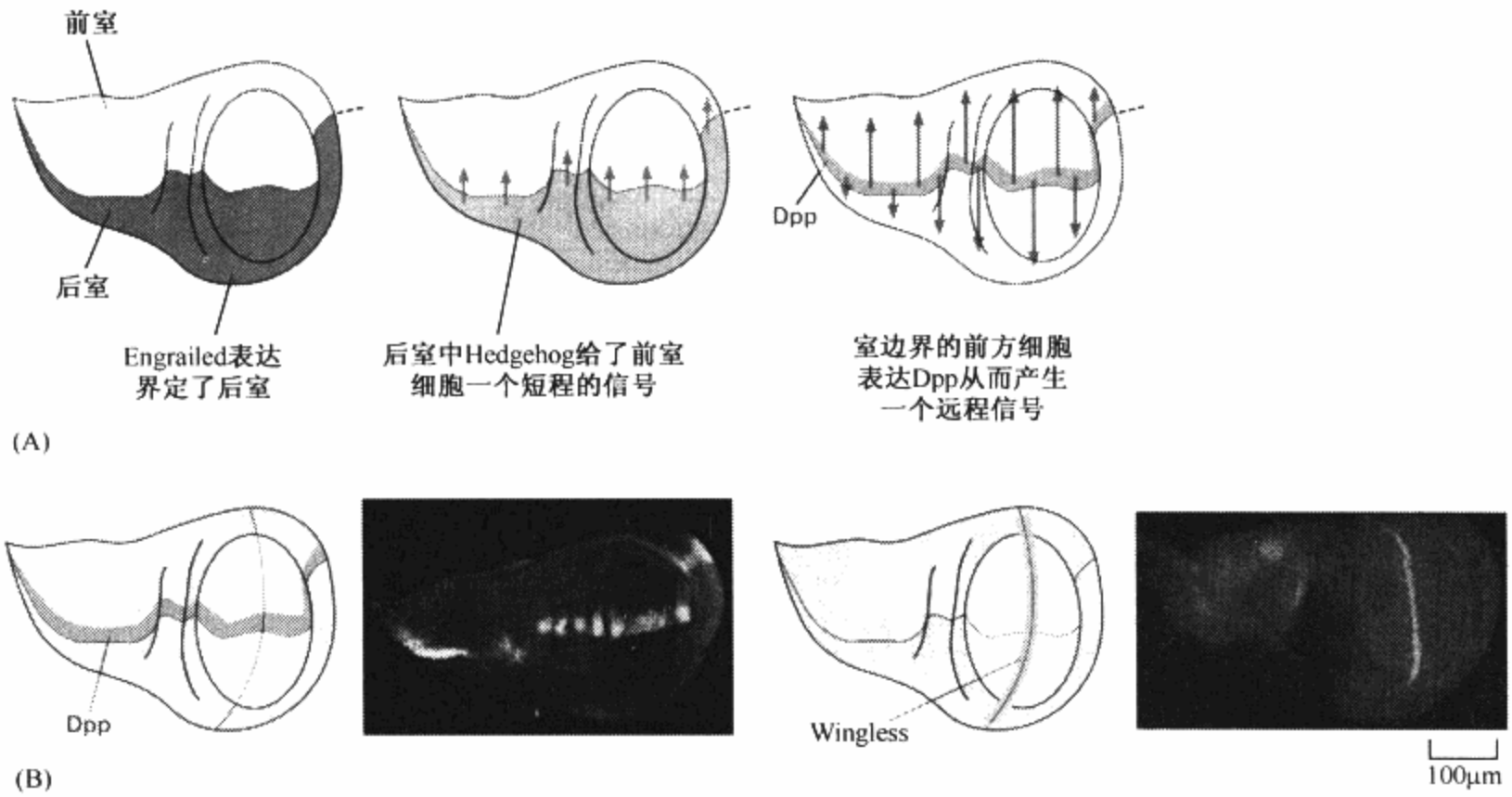


图 21-54　形态发生素信号建立了翅成虫盘不同区域间的边界

（A）Hedgehog 调控的前后细胞间相互作用，在边缘处建立了 Dpp 信号区域。Notch 调控的背腹细胞间相互作用，建立了边缘处的 Wnt 信号通路。（B）Dpp 和 Wingless 表达图案。虽然 Dpp 和 Wingless 是形态发生素，但我们不知道它们是通过简单的细胞扩散进行分布的还是通过其他的方式。但我们知道，成虫盘细胞伸出 cytoneme，感受很远的细胞信号。也就是说，感受细胞伸出感受元件到信号源，而不是信号向感受细胞移动

一个首要的问题就是分区大小是否是由包含细胞的数目来决定的。细胞周期调控蛋白的突变可以加快或减慢细胞分裂的速度而不影响细胞或组织的生长速度。这一方法导致了大量的非正常小细胞的出现或者是相反的现象，但分区的大小却不改变。这一调控机制依赖于指示分区内某一部分与其他部分距离的信号，或者依赖于这些信号引起的细胞间反应。当组织到达正确的区域后就会停止生长。

这一系统是如何工作的呢？研究胰岛素和胰岛素样信号通路遗传缺陷的果蝇是一个很好的方法，这种果蝇不仅细胞较小而且数量减少，当过量表达这些基因时，果蝇会很大，细胞个体变大而且数目增多。在其他区域异位表达这些基因同样可以产生类似的效果。胰岛素是一个大多数动物调控营养的调控子，所以它调控分区或器官大小的机制可能与依赖营养条件调控细胞生长和增殖的调控机制相关。

另一个深层次的问题是，不论生长速度改变或起始条件改变，区域内的每个小块是怎样生长到它合适的大小的？形态发生素浓度梯度对不同位置的细胞产生的影响不同。每个区域中的细胞能够感知图案的空间距离（浓度梯度改变对细胞特征的影响有多剧烈），细胞就可以在组织到达正确位置前继续生长。这一现象的一个有力证据是**中间区域的再生**，当果蝇成虫盘的每个部分或一个生长的蟑螂腿被衔接在一起就会发生这样的现象。在嫁接后，连接处周围的细胞增殖填补本应在它们之间的图案部分，直到标志间的正常距离形成后才停止生长（图 21-55）。这一现象的机制很神秘，但它似乎和正常发育中调控生长的机制相似。

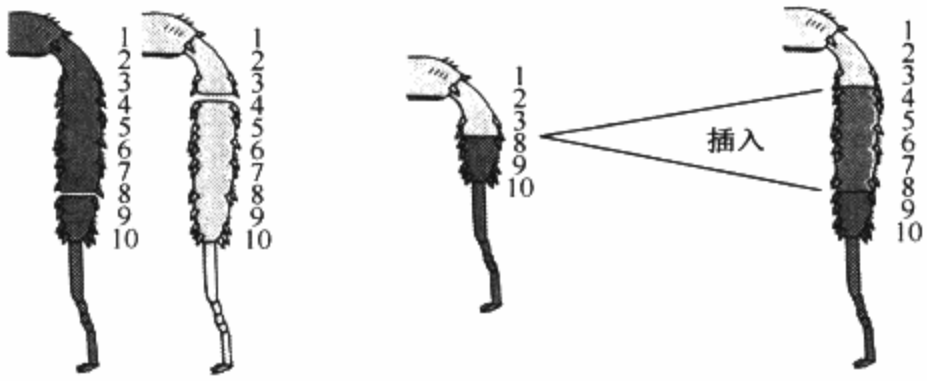


图 21-55　中央再生

当错配的蟑螂被移植到一起，新的组织就会填充腿部的缺口，形成正常大小和结构的腿部

脊椎动物肢体形成的相似机制

脊椎动物的肢体表面与昆虫的肢体有很大区别。例如，昆虫的翅由两个主要的表皮组成，它们之间有一些组织。相反，脊椎动物的附肢由一些精细的图案系统组成，包括内部的肌肉、骨和其他的连接组织和外部结构简单的表皮。但进化证据显示，最近的昆虫和脊椎动物祖先没有腿，没有胳膊，没有翅也没有鳍，这些附肢都是各自独立进化的。但当我们研究控制脊椎动物附肢发育的分子机制时，我们发现与昆虫的有很大相似。我们先前已经提过了很多共同之处，但还有更多的：几乎所有在果蝇翅发育中的基因在脊椎动物附肢发育中都有作用，虽然它们表达的空间关系不同。

这一平行关系在鸡胚中研究最多。正如先前我们看到的，每个腿或翅都是由一个舌状的附肢芽开始发育的，这些芽中包含了许多胚胎连接组织细胞——间充质细胞，并被一层上皮细胞包裹。在这一结构中，可以找到先前在果蝇翅发育中的所有基因的同源物，包括 *Distal-less*、*wingless*、*Notch*、*engrailed*、*dpp* 和 *Hedgehog*，而且它们的功能也与在果蝇翅中的功能有或多或少的类似（图 21-56）。

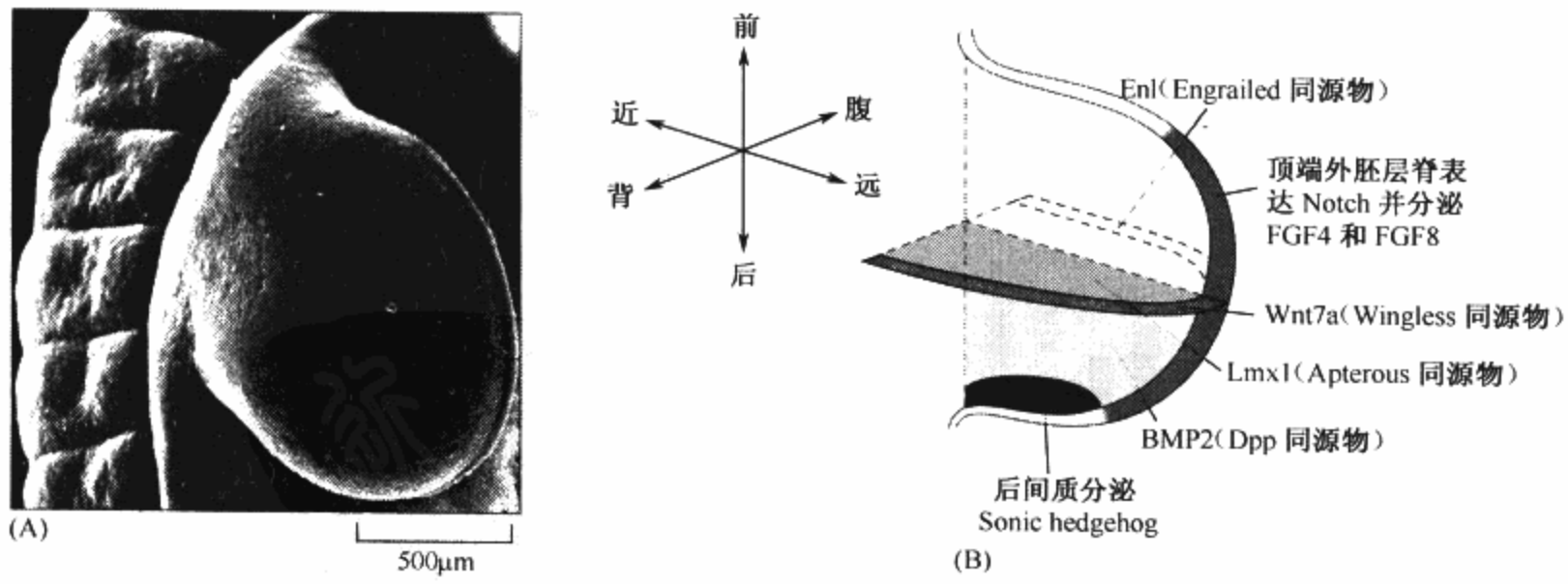


图 21-56　控制脊椎动物附肢芽的分子

（A）4 天的鸡胚翅芽。电镜图片显示为背面观，左侧为体节。在翅芽的远端可以看到一层较厚的组织——顶端外胚层桥。（B）在翅芽中重要的信号蛋白和基因调控因子的表达图案。图案被分为两个横切面，一个显示背腹系统，另一个显示前后系统和近远系统。Shh、BMP2、Lmxl 在翅芽的中胚层核心区域表达，其他分子在表皮中表达。所有的分子在果蝇翅芽中都有同源物（经 Paul Martin 许可）

Hox 基因在昆虫和脊椎动物附肢的发育中都出现。在昆虫的附肢中，通过表达不同的 Hox 基因来区分前后的不同区域，这是 Hox 基因沿体轴前后顺序表达的结果。在脊椎动物的附肢中，两个脊椎动物 Hox 复合物（HoxA 和 HoxB）按照同源异型复合物基因的一般规律表达。它们与其他因子如 Tbx 蛋白一起调控沿下部末端附肢的细胞行为。

总的来说，由同一祖先进化来的不同物种（即使没有附肢，或者是根据相似原理构造的不同类型附肢），它们附肢的发育分子机制都类似。无论昆虫的翅和腿，还是人类的胳膊和腿，都是激活了那些在身体新位点可以形成附肢的基因，而这些都是基因调控改变的结果。

特定类型基因调控蛋白的表达预示了细胞分化

现在我们仍要从果蝇成虫盘发育开始讲述，一直到其细胞最终分化。我们将以**感觉刚毛**——一类虫成虫盘表皮发育而来的微小结构来作为例子。

覆盖在昆虫体表的刚毛是其微小的感觉器官。有些对化学刺激发生反应，而有些对机械刺激发生反应，但它们是以相似的方式构造的。这些结构看来都是最简单的。每个都含有 4 个细胞：一个轴细胞、一个孔状细胞、一个神经包被细胞和一个神经细胞（图 21-57）。刚毛轴的运动刺激神经元，神经元就会向中枢神经系统发出信号。

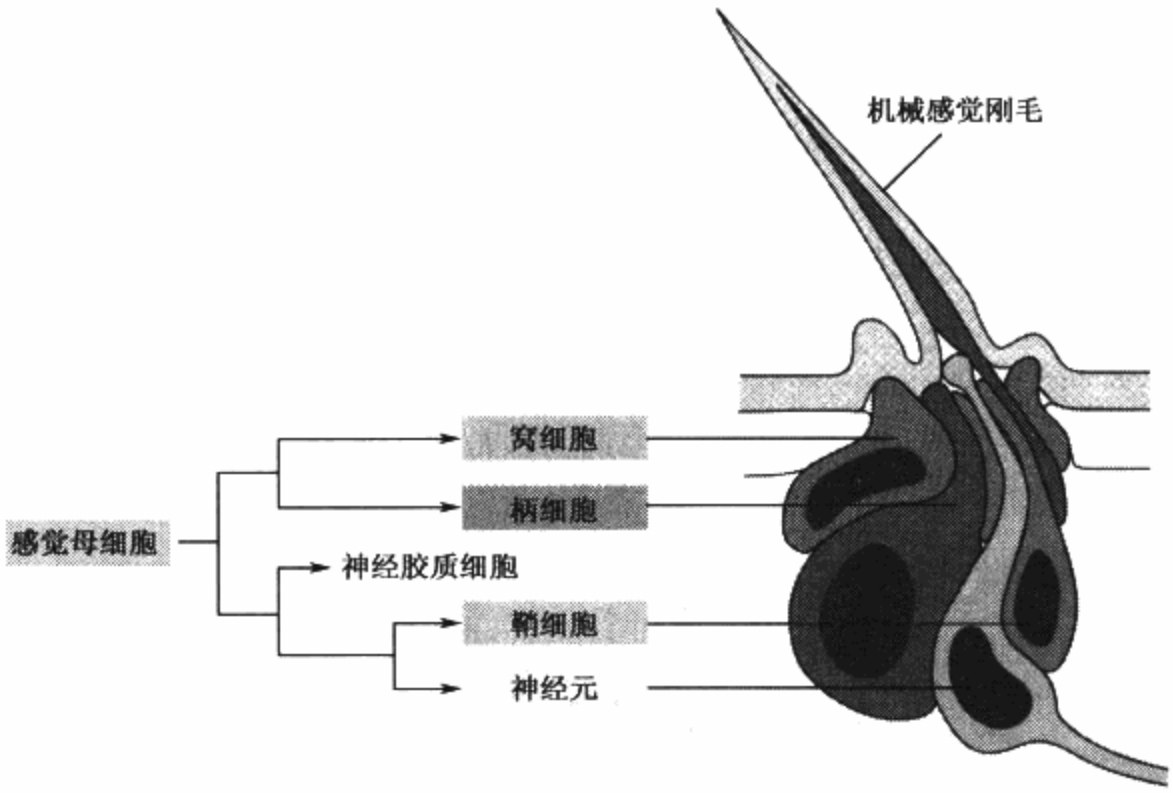


图 21-57　刚毛的基本结构

刚毛 4 类细胞的谱系——它们都来源于同一个感觉母细胞

achaete 和 *scute* 两个基因对在成虫盘表皮生长出刚毛具有重要作用。这些基因都很相似且功能上交叉，编码了具有基本螺旋-环-螺旋结构（见第 7 章）的基因调控蛋白。正如我们在成虫盘图案形成机制中所说的，*achaete* 和 *scute* 只在成虫盘中刚毛形成的区域表达。这些基因的缺失突变将会导致这些区域不能形成刚毛，而异位表达这些基因则会在其他位置产生刚毛。但是 *achaete* 和 *scute* 的表达是瞬时的，只有那些表达这两个基因的细胞才会成为感觉母细胞，其他细胞则成为普通的表皮。通过表达 *achaete* 和 *scute* 来特异细胞状态就称为预神经化，而 *achaete* 和 *scute* 则被称为**预神经化基因**。预神经化细胞将要向神经感觉的方向分化，但我们也要看到，这一过程依赖于它们间的竞争性相互作用。

侧向抑制从预神经细胞簇中选出感觉神经母细胞

那些表达预神经化基因的细胞是成虫盘表皮的一组细胞——一个少于 30 个细胞簇形成一个独立的刚毛，而成百上千个细胞形成了一片刚毛。有些人认为在这一簇细胞中仅仅会有一个能成为感觉母细胞，还有人认为预神经化区域内的很多细胞都可以成为感觉母细胞。但不管是哪种情况，感觉母细胞都是被那些不再表达预神经化基因而转而变为表皮的细胞包围。遗传学嵌合体试验表明，那些将要成为感觉母细胞的细胞会释放一些信号，让周围的细胞不再向感觉母细胞分化，即表现出了侧向抑制。如果本应当成为感觉母细胞的细胞不能正常发生这一过程，那些周围的预神经化细胞就不被侧向抑制，从而能够分化为感觉母细胞。

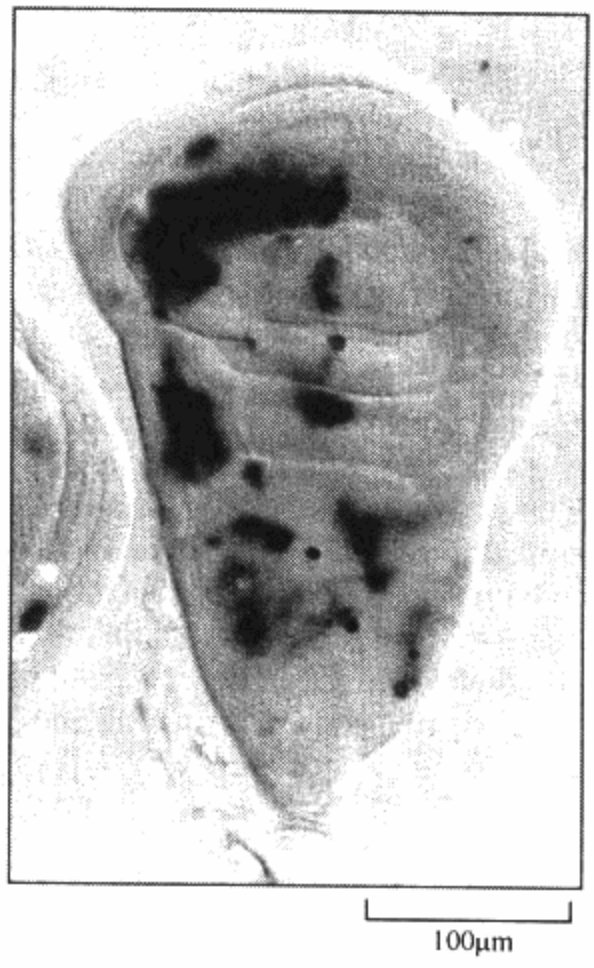


图 21-58　翅成虫盘的感觉母细胞
在图中我们可以很容易地观察到感觉母细胞，在这种果蝇中，我们将 *LacZ* 报道基因插入到了一段控制序列下游，从而会在感觉母细胞中特异性地表达。Purple 品系显示了 *scute* 基因的表达图案，这预示了感觉母细胞的产生和随着发育感觉母细胞的消失（引自 P. Cubas et al., *Gene Dev.* 5：996～1008，1991. © Cold Spring Harbor Press）

侧向抑制是被 Notch 信号通路调控的。细胞簇中的所有细胞开始都表达跨膜受体 Notch 和它的跨膜配体 Delta。当 Delta 和 Notch 结合后，就会对表达 Notch 的细胞产生一个抑制信号。也就是说在开始的时候，所有的细胞都相互抑制。但当一个细胞接受这一信号以后，细胞不仅减少其向感觉母细胞的分化，同时还减少了其运输 Delta 信号的反馈能力。这就创造了一个竞争环境，那个将要发育为感觉母细胞的细胞对其周围的细胞释放强烈的抑制信号，并且不会接受类似信号（图 21-59）。图 21-60 所示为这一调控机制失败导致的现象。

侧向抑制促使感觉母细胞的后代向最终命运分化

依赖于 Notch 的侧向抑制机制也调控了刚毛的形成，不仅是让感觉母细胞周围的细胞向不同的方向分化成为上皮细胞，同时还让感觉母细胞不同的子代细胞表达不同的基因，从而形成刚毛的不同结构。在每个时期，侧向抑制调节了一个竞争性的相互作用来促使相互连接的细胞向不同方向分化。Notch 温度敏感性突变体可以在感觉母细胞分化出来后而在其分裂前缺失 Notch 的表达。我们发现，这种情况下后代细胞都会分化为神经元细胞而不是刚毛的四种类型细胞。

与其他的竞争机制一样，由侧向抑制调控的竞争也是不公平的：其中一个细胞本身就具有优势能够成为胜利者。在感觉刚毛不同类型细胞的发育过程中，在感觉母细胞和其子代细胞的分裂中就具有明显的倾向性。Numb 蛋白和其他一些蛋白质就会定位在分裂细胞的一端，那么一个子代细胞就会有 Numb 蛋白，而另一个没有（图 21-61）。Numb 与 Notch 结合抑制了 Notch 活性。那么，含有 Numb 的细胞就对周围细胞的抑制信号不产生应答，而另一个细胞就对抑制信号很敏感。虽然所有的细胞最初都表达 Notch 配体蛋白 Delta，但那些含有 Numb 的细胞才会成为神经细胞，而其他的细胞就会向非神经命运发展。

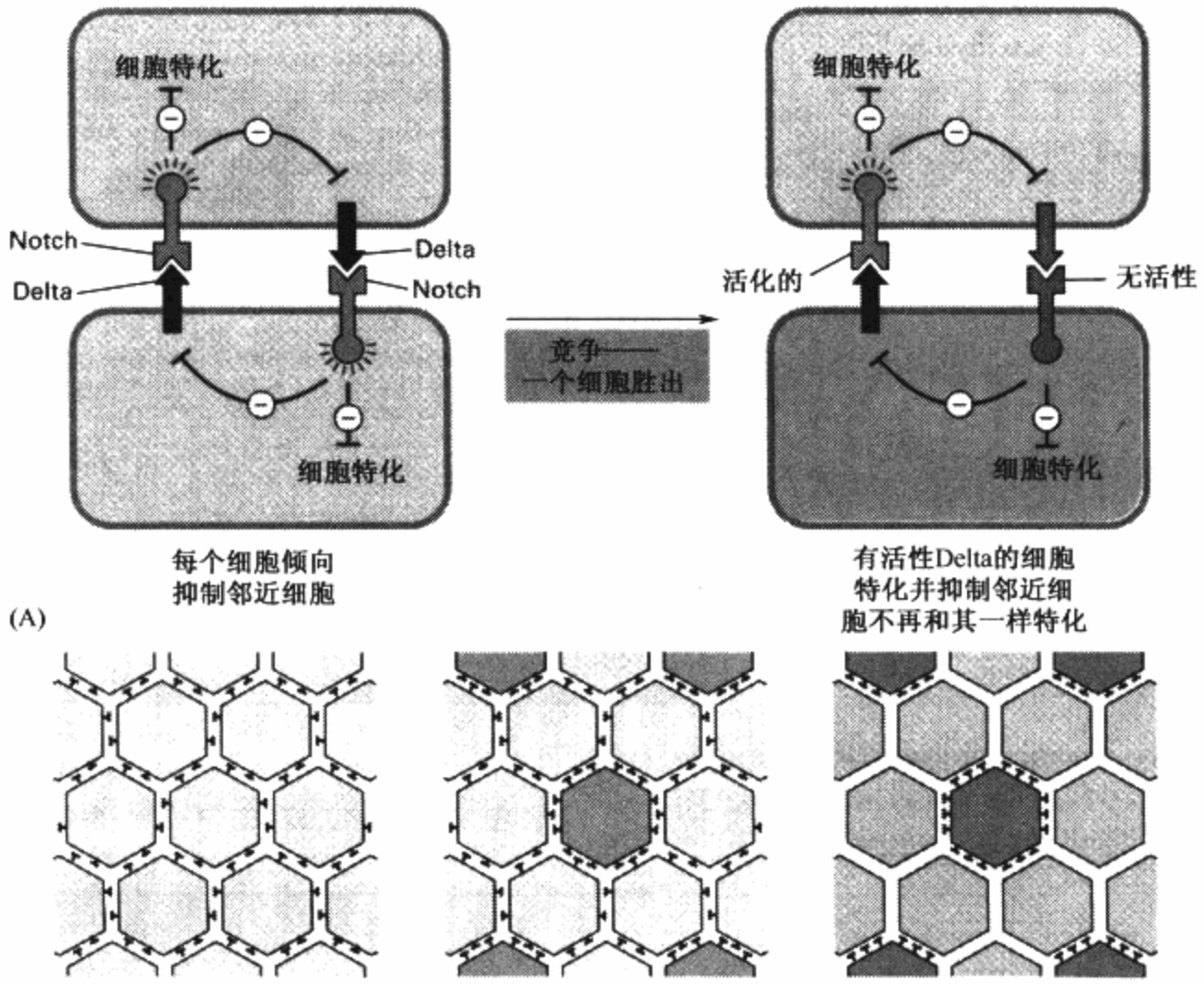


图 21-59　侧向抑制

（A）图中所示为 Notch 介导的两细胞间侧向抑制的基本机制。图中没有颜色的蛋白质或因子代表其是失活的状态。（B）在大片细胞中也存在同样的过程。最初，这些细胞都一样表达跨膜受体 Notch 和跨膜配体 Delta。每个细胞都具有分化潜力，并且分泌抑制信号抑制周围细胞以同样方式分化。这样就产生了竞争，当其中一个细胞获得优势后，这个细胞就会分化为感觉母细胞，而且进一步抑制周围细胞。相反，周围细胞就会失去向感觉母细胞分化的能力，并且失去对周围细胞的抑制。侧向抑制就使得细胞获得不同命运。虽然这一过程似乎依赖于细胞-细胞间的接触，但感觉母细胞却可以将抑制信号传到一个细胞直径远的地方，如它们可以伸出突起来相互接触

图 21-60　在感觉母细胞信号关闭后停止侧向抑制的结果

图中显示了神经元发生基因 Delta 失活突变果蝇的背板。侧向抑制的减少导致了细胞都分化为感觉母细胞，并产生了许多感觉刚毛。突变细胞在 Notch 信号通路上有很多突变，由于细胞都分化为神经细胞或神经胶质细胞而没有其他结构，所以产生了很多不可见的刚毛

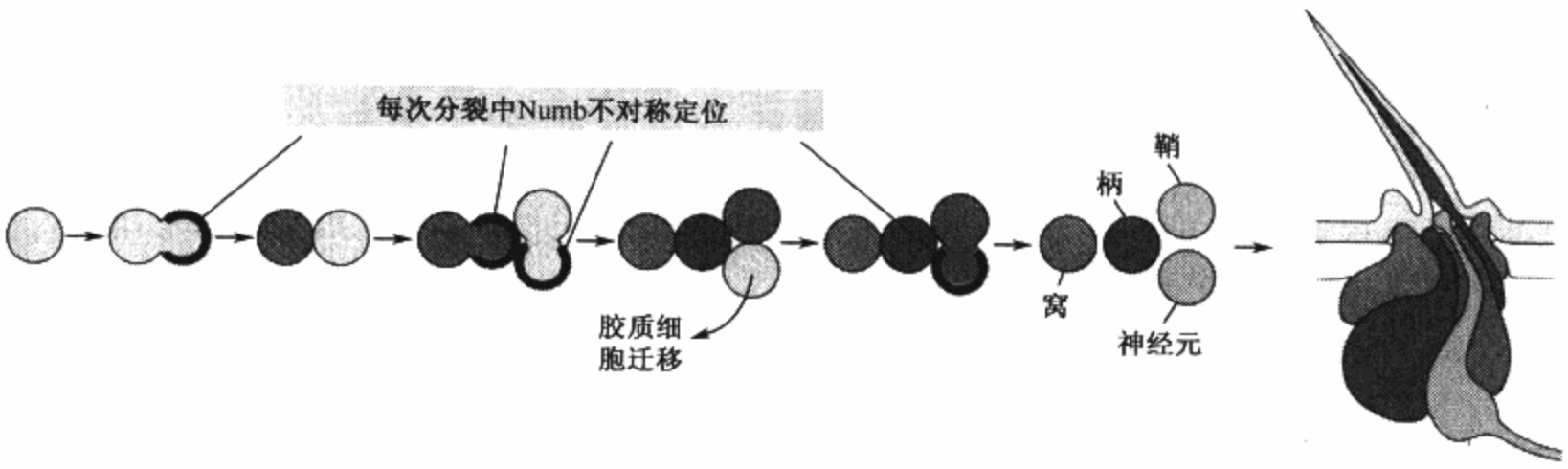


图 21-61　在刚毛发育中依赖于 Numb 的侧向抑制

在感觉母细胞的每一次分裂中，Numb 蛋白的不对称性分布导致了后代细胞的不同。在不同类型的细胞分裂中，Numb 的定位由不同的机制控制，但 Numb 的分步对细胞命运的决定有重要的作用（数据来自 M. Gho，Y. Bellaiche 和 F. Schweisguth，*Development* 126：3573～3584，1999）

不对称分裂的平面极性由 Frizzled 调控的信号决定

除了 Numb 调控机制外，分裂细胞在分裂前肯定有其他的机制来将决定素分到细胞的一边。当细胞进入分裂期后，纺锤体不对称联会，形态决定素就会分到一个子代细胞中而不是进入两个子代细胞中。感觉母细胞在第一次分裂的时候，产生一个含有 Numb 的前部细胞和一个不含 Numb 的后部细胞，这一表皮的极性就是平面极性（与顶底极性相垂直）。果蝇所有的刚毛都向后伸展，就好像是被风吹的效果一样（图 21-62）。

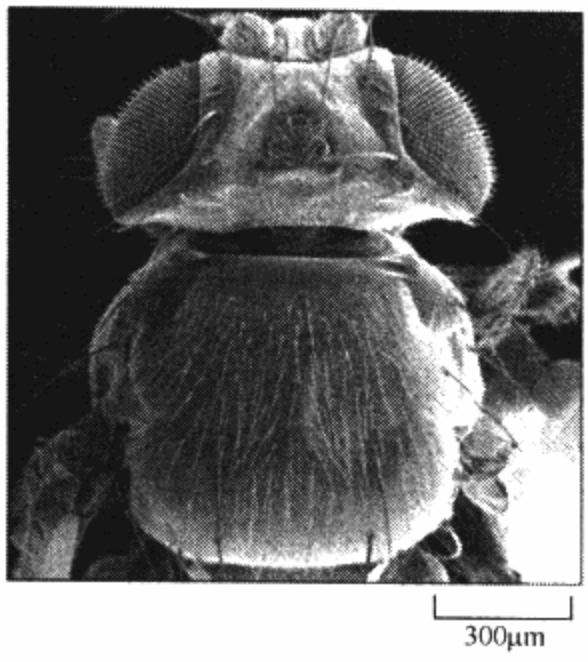


图 21-62　果蝇背部刚毛的平面细胞极性：刚毛都向后生长

最初感觉母细胞分裂产生的平面极性是被控制线虫不对称分裂的类似信号控制的（图 21-20），即 Frizzled 受体信号。Frizzled 作为 Wnt 信号的受体在第 15 章已被阐述，但在控制果蝇甚至是脊椎动物平面极性中却是以另外一种方式行使功能：其主要作用于肌动蛋白细胞骨架而不是基因表达。细胞内蛋白 Dishevelled 是 Frizzled 的下游蛋白质，参与了很多基因调控和 actin 调控信号通路。Dishevelled 的不同结构域主要负责这两个功能（图 21-63）。Frizzled 和 Disevelled 就是通过果蝇刚毛极性不规则的突变表型来命名的。

侧向抑制和不对称分裂共同调控身体神经元的产生

控制果蝇感觉刚毛神经元的产生机制经过细微的改变还可以控制其他神经元的产生，不仅仅是昆虫还包括其他门类的动物。不论是果蝇还是脊椎动物，胚胎中央神经系统都是由那些表达预神经化基因 *achaete* 和 *scute* 的区域形成的。最初的神经元或神经母细胞通过表达 Delta 来抑制周围表达 Notch 的细胞在同一时间向神经细胞分化。当 Notch 信号被阻断后，这一抑制就消失，那些非神经元细胞就会成为神经元细胞（图 21-64）。

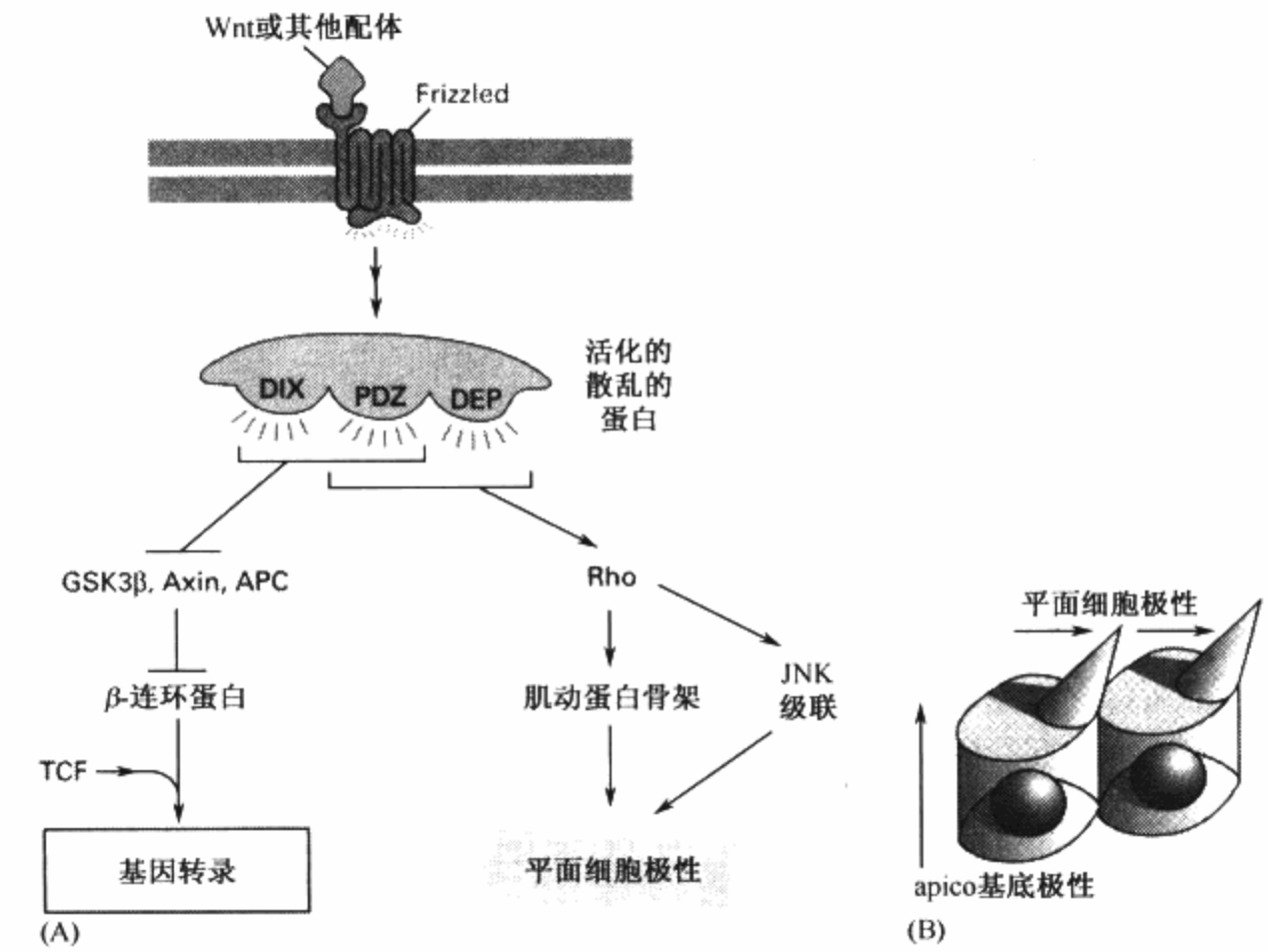


图 21-63　平面细胞极性的控制

(A) Wnt/Frizzled 信号通路的两个分支。主通路通过 β-cantenin 来调控基因表达。平面极性分支通过 GTPase 控制肌动蛋白细胞骨架。散乱的不同结构域负责两个不同的功能。目前还不了解 Wnt 信号中的哪个成员控制了果蝇中的平面细胞极性。(B) 细胞平面极性的卡通图。在某些系统中，细胞的平面极性与 Frizzled 在细胞中的不对称性分布有关

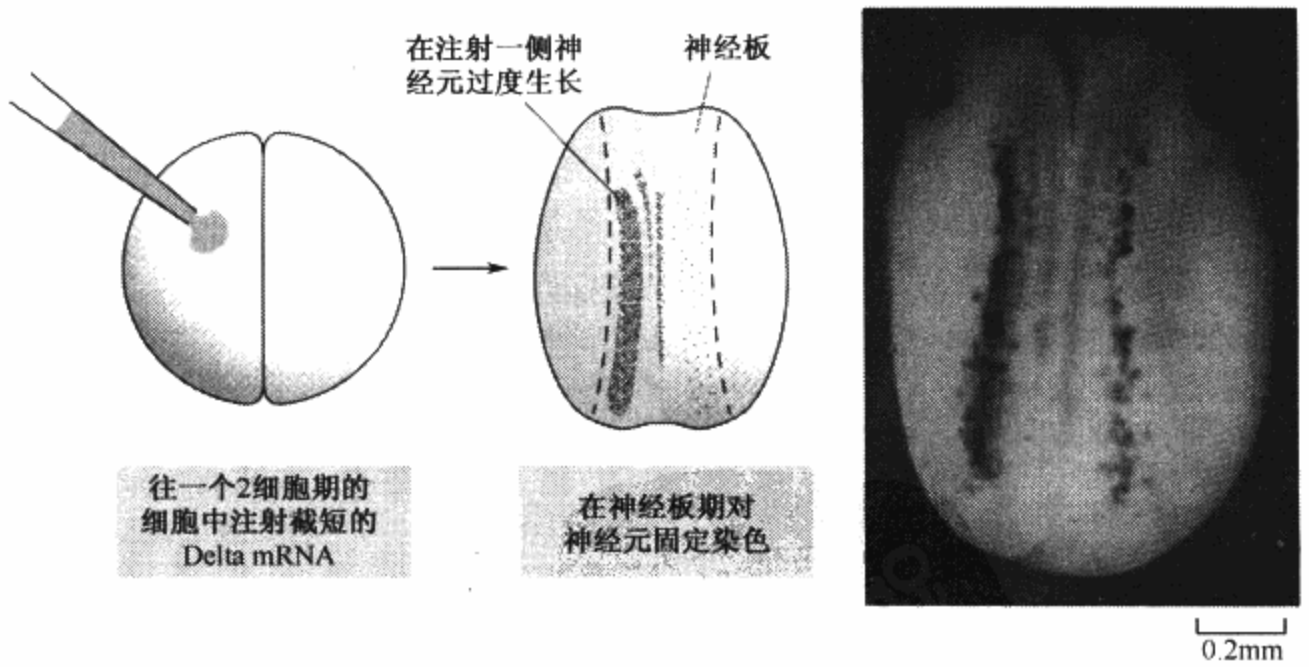


图 21-64　阻断爪蟾胚胎中 Notch 信号后的作用

在实验中，注射截断的 Notch 配体 Delta 和 *LacZ* 的 mRNA 到两细胞期胚胎的其中一个细胞中。截断的 Delta 抑制了注射细胞中的 Notch 信号。胚胎左侧细胞由于 LacZ 的存在可以很容易地被分辨出来。右侧细胞不受影响，可以作为对照。当胚胎出现神经板，但还没有发育出中央神经系统的时候，将胚胎固定并染色。最初的神经元开始沿中线两侧分化。在右侧仅有一部分细胞成为神经元细胞。而在左侧，Notch 信号被抑制后，所有的细胞都分化为神经元细胞。但当注射完整的 Delta mRNA 会有相反的结果，神经元数量大大减少

在神经产生的许多过程中，如感觉刚毛的发育，细胞的不对称性分裂起了主要的作用，虽然具体的方式和与 Notch 信号的关系不同。在果蝇胚胎中央神经系统中，神经前体细胞通过依赖于 Notch 的侧向抑制机制从神经外胚层分化出来，然后具有顶底极性的细胞就会发生不对称性分裂。在神经胚一端神经化细胞命运决定是由 Bazooka 控制的，其在表皮细胞顶底极性建立和脊椎动物中央神经系统产生都有重要作用。Bazooka 是 Par-3 的同源物，Par-3 就调控了线虫早期胚胎的不对称分裂。

Notch 信号调控了不同组织中不同类型细胞构建的美丽图案

通过预神经化基因的表达以及被 Notch 的调控这一过程产生的侧向抑制和细胞多样性，对不同组织中美丽图案的构建是至关重要的。在果蝇中，其不仅控制神经元的产生，也控制了许多其他的分化后细胞类型，如肌肉中、肠道内皮中、分泌系统中、管道中、眼中其他感觉器官中的许多细胞。在脊椎动物中，预神经化基因、Notch 和其配体都在相应的组织中表达并具有相似的功能：Notch 信号通路的突变不仅影响中央神经系统中神经元和非神经元细胞，还影响了肠道内皮细胞、胰腺分泌腺细胞和感觉器官中感觉细胞和支持细胞。

在所有的这些组织中，需要不同类型细胞的平衡。Notch 信号就是通过促使一类细胞表达一组基因而其周围细胞表达其他基因的方式来产生不同类型细胞平衡的细胞混合物。

一些关键的调控基因决定了细胞类型；其他的激活建立整个器官的程序

分化模式的最终选择是由细胞在受到 Notch 信号调控后表达的基因来决定的。每个细胞都要表达一整套基因来促使其分化，但这些基因的表达都受到少数高级的调控基因控制。这些调控子被称为“主要调控蛋白”，如基因调控蛋白 MyoD 家族——MyoD、Myogenin、Myf5、MRF4 和其在无脊椎动物中的同源物。这些基因促使细胞向肌肉细胞分化，并促进肌肉细胞特异性肌动蛋白、肌球蛋白等肌肉细胞必需的其他细胞骨架蛋白、代谢蛋白和膜蛋白(图 7-72)。

决定细胞类型的基因调控蛋白往往属于基本的螺旋-环-螺旋家族，它们都是由那些与起始发育最后过程的与神经化基因的同源基因来编码。它们的表达往往通过竞争性反馈受到 Notch 信号通路的调节。

最终细胞分化使我们想到基因是怎样调控形成一只果蝇的呢？我们的思路需要简单化。在我们所提及的每一个发育过程中都有更多的基因参与。反馈及其改变机制组成了整个图案。一小部分基因和机制在发育的不同时间不同位置被多次使用，它们控制了多细胞生物发育的主要特征。

我们随后将介绍一个主要的动物发育现象：受调控的细胞运动。

小结

成体果蝇的附肢是由成虫盘发育而来的。在早期胚胎图案形成过程中，每个成虫盘被分为多个表达不同基因调控蛋白的区域。这些区域间的细胞不会相互混乱。在区域边缘，表达不同基因的细胞相互作用，包括那些控制每个区域内部图案形成和生长的形态发生素。因此，在翅成虫盘中，背部细胞和腹部细胞通过 Notch 信号相互作用，沿背腹区域边缘建立了 Wnt 信号源，前部细胞和后部细胞通过短距离的 Hedgehog 信号沿着前后区域边缘建立了 Dpp 蛋白源。所有的这些信号分子在脊椎动物中都有同源物并在附肢的形成中有相似的作用。

在每个区域内，形态发生素浓度梯度控制了随后基因的表达位置，决定了细胞相互作用

的方式和细胞分化的最终图案。因此，预神经化基因的表达决定了感觉刚毛的形成位置，Notch 调控的相互作用和不对称细胞分裂共同促使刚毛的每个细胞向不同的最终分化方向分化。

成虫盘的每个区域及其内部的每个亚结构都会生长到精确的大小，即使是决定细胞分裂速率基因突变后也不改变。虽然我们知道形态发生素浓度梯度参与了这一过程，但具体的调控机制我们还不了解。

细胞运动和脊椎动物体型的形成

动物身体的大部分细胞都有运动能力，胚胎发育中的细胞运动往往是广泛的、生动的和令人惊奇的。基因表达的规律变化促使不同状态的细胞按特定顺序排列。细胞运动可以重排细胞间阻碍并将细胞放入它们合适的位置。细胞表达的基因决定了细胞的运动，也就是说，基因表达的的控制是最基本的现象。但是细胞运动也是很重要的，对我们了解身体结构是怎样形成的也是必需的。在本部分将讨论脊椎动物发育中的细胞运动。我们将主要以细胞运动被研究广泛的爪蟾（图 21-65）作为例子，同时也将介绍一些鸡、斑马鱼和小鼠的例子。

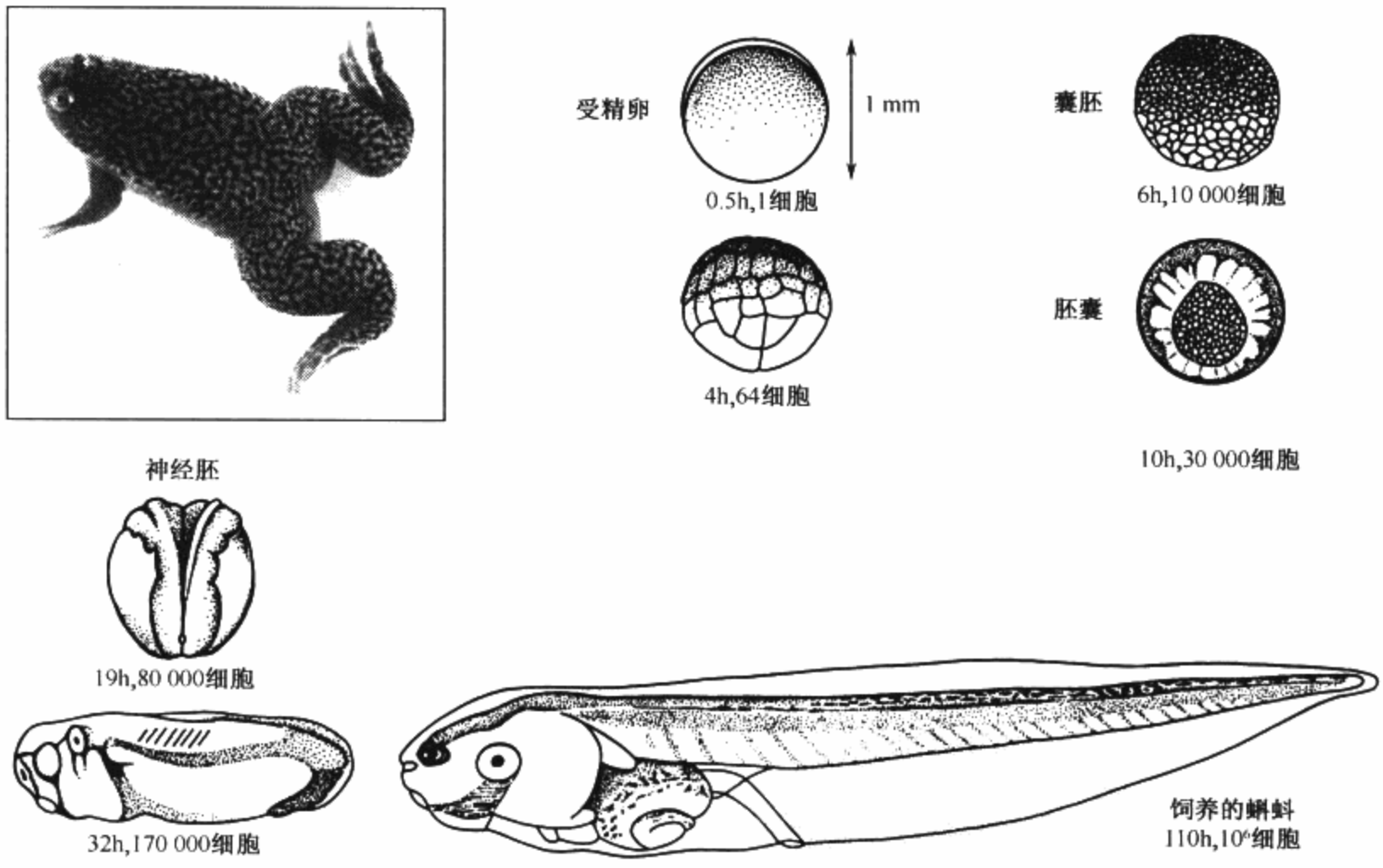


图 21-65　爪蟾从受精卵到蝌蚪的发育过程

上图为成体爪蟾。发育过程为侧面观，10h 和 19h 图为顶面观。除成体外，其余的发育时期大小比例都一致［像片经 Jonathan Slack 许可；草图改自 P. D. Nieuwkoop and J. Faber，Normal Table of *Xenopus laevis*（Daudin）. Amsterdam：North-Holland，1956.］

胚胎极性依赖于卵极性

爪蟾的卵是一个直径 1mm 的大细胞［图 21-66（A）］。卵下部颜色较浅的一端为植物极，上部颜色较深的一端为动物极。植物极和动物极具有不同的 mRNA 和细胞器，在受精后随着

卵裂分布到不同的细胞中。例如，在植物极就聚集了编码基因表达调控蛋白 VegT（T-box 家族 DNA 结合蛋白）和 TGFβ 超家族的成员，以及 Wnt 信号通路的成员［图 21-66（B)］。结果，含有植物极细胞质的细胞将会产生信号来调控周围细胞的行为并形成肠道-身体的内部组织；含有动物极细胞质的细胞将会形成外部组织。

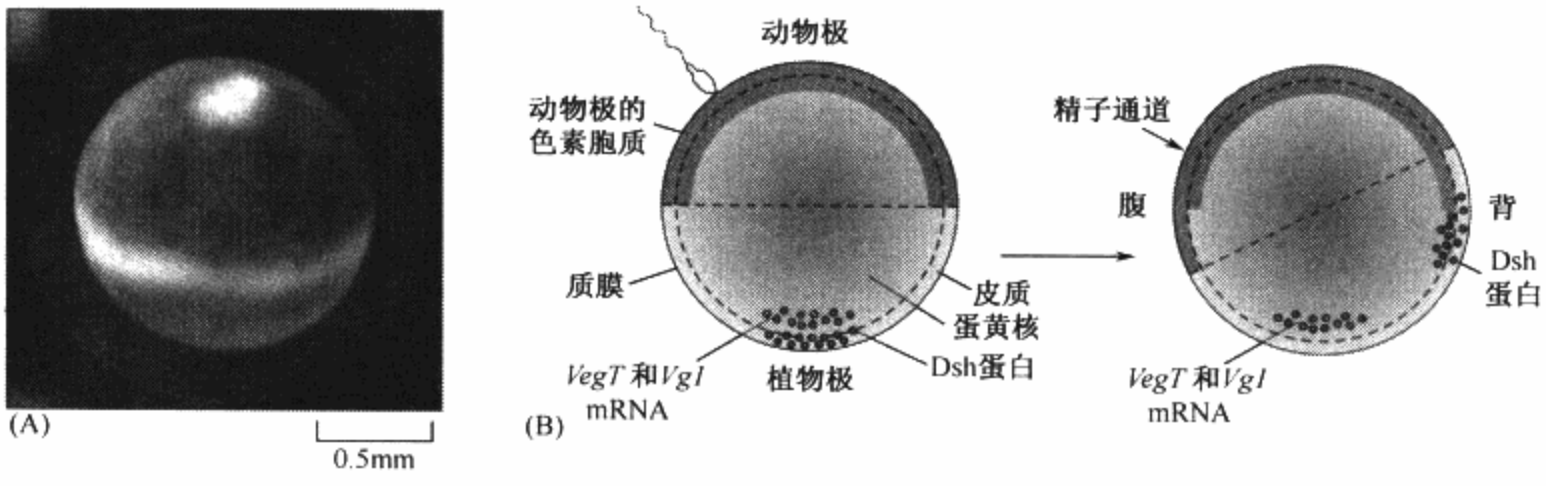


图 21-66　爪蟾卵及其不对称性

（A）卵受精前的侧面观。（B）卵内分子的不对称性分布及这些分子随着受精是如何变化的，同时还决定了背腹不对称性。Vg1 编码了 TGFβ 超家族的一员。受精引起了两类细胞内运动，它们都依赖于微管：①卵皮层向精子进入方向旋转 30°，②Wnt 信号通路的 Dsh 蛋白向未来背部移动。Dsh 蛋白在背部的聚集决定了胚胎未来的背腹极性（经 Tony Mills 许可）

受精开始于一系列复杂的运动，植物极细胞从动植物轴的中部向内卷曲。在这一过程中，形成了三个重要的体轴：前后轴、背腹轴和中侧轴。未受精卵的动-植物极不对称性只能决定其中的一个轴——前后轴。受精引起了细胞内部运动并建立了背腹轴。随着精子的进入，外部富含肌动蛋白的细胞质进入到细胞内部，动物极就成为了未来的腹部。阻止旋转后，细胞分裂正常，但胚胎只有肠道而没有背部结构和背腹不对称性。

旋转的方向依赖于精子的进入位点，也许是依赖于精子的中心体，或者是卵细胞质中微管的重组。这可以使依赖于微管运输的 Wnt 信号下游成分 Dishevelled 向背部运输［图 21-66（B)］。细胞内 Dishevelled 聚集的区域将能够接受 Wnt 信号并表达背部特异性信号。这些细胞也将产生更多信号来组织身体背腹轴的形成。

细胞分裂由一细胞产生多细胞

表皮旋转大约会在受精后 1h 结束并开始分裂，受精卵细胞快速分裂形成许多小的细胞，而整体大小不变（图 21-67）。通过这种方法，那些在卵中不对称分布的决定物质将分配到具有不同命运的细胞中（图 21-68）。

爪蟾中这些最初的细胞分裂大约 30min，只有 S 和 M 期交替出现。高速的 DNA 复制和有丝分裂似乎没有基因转录，分裂的胚胎依赖于卵中储存的 RNA、蛋白质、膜和其他物质。在大约 12 次细胞分裂后，细胞分裂速率下降，细胞周期开始出现 G_1 期和 G_2 期，胚胎基因组开始转录。这些事件被称为中期囊胚转变。

原肠胚发育将形成具有简单肠道的三胚层结构

在胚胎分裂时，胚胎变得像是一个球状，内部充满了液体，外部包被一层细胞。此时胚胎被称为**囊胚**（图 21-69）。

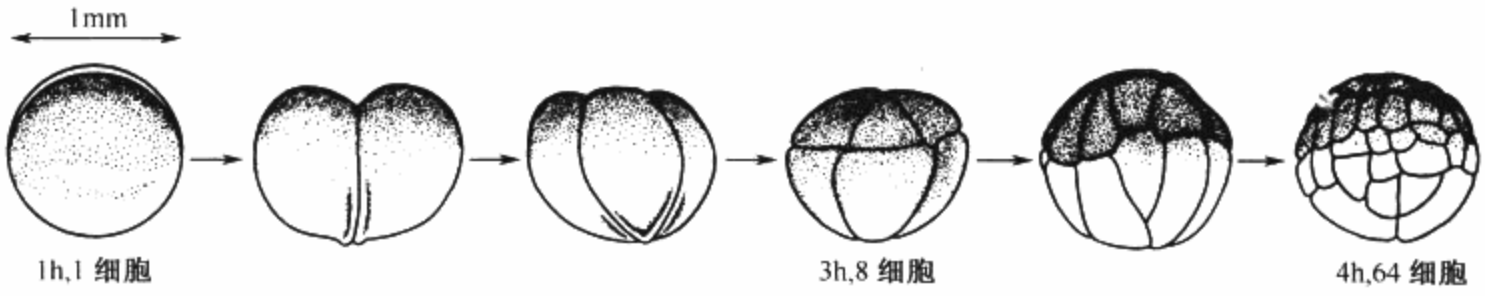


图 21-67　爪蟾分裂期

细胞分裂使受精卵迅速成为许多小的细胞，在前 12 次分裂时，所有的细胞都同时分裂，但是不对称分裂，所以植物极由于卵黄存在，细胞较少较大

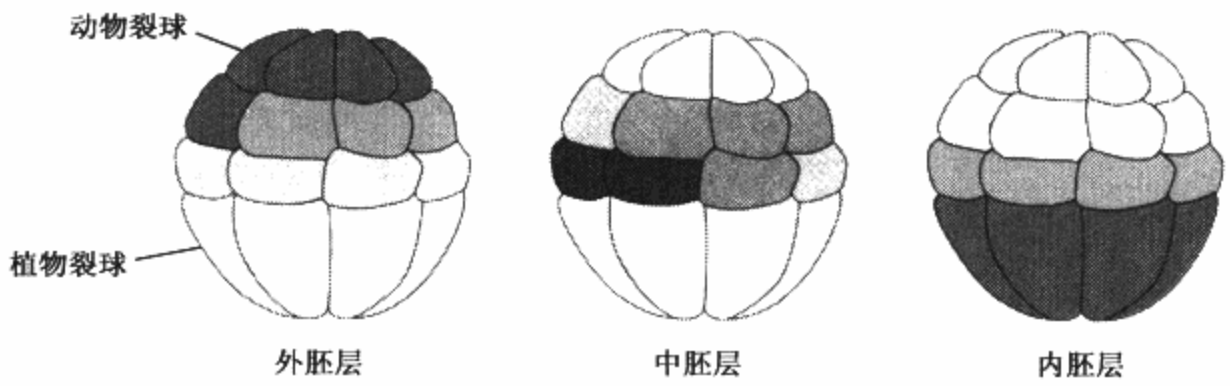


图 21-68　在胚胎分裂早期就可以区分三胚层

内胚层大部分来源于植物极，外胚层大部分来源于动物极，中胚层既来源于植物极又来源于动物极。图中标为颜色的部分将会发育为未来的胚层（引自 L. Dale. Curr. Biol. 9：R812～R815，1999）

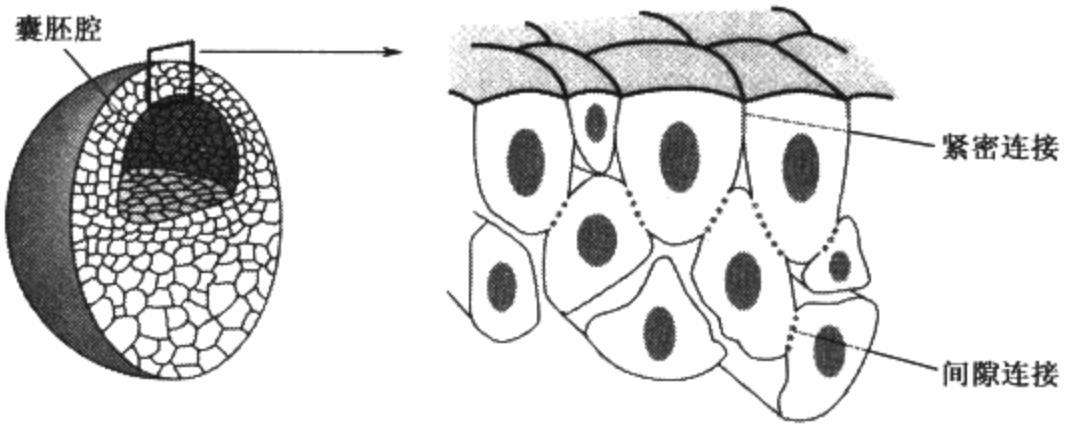


图 21-69　囊胚

在胚胎的最外层，囊胚间的紧密连接形成了表皮层，将胚胎内部与外部介质分开。Na^+ 通过这一表皮层进入到胚胎内部，水则通过渗透压梯度进入胚胎。结果是胚胎内部形成一个空腔——囊胚腔。在爪蟾中，囊胚腔壁有几层细胞厚，但只有最外层细胞才会形成紧密连接

在此之后，原肠胚运动开始了。这一过程将简单的球状胚胎变为具有中央肠道和双侧对称的多层结构：海胆的这一过程就已经被精确描述（图 21-3），许多胚胎外部细胞向内部卷曲。随后的发育依赖于内部和外部细胞的相互作用，并形成了中层细胞：内胚层在内部，包括那些形成肠道的细胞，外胚层在外部，包括那些仍然留在外面的细胞，两者间是中胚层，包括那些由上皮细胞转变为松散的胚胎连接组织的细胞（图 21-70）。成体脊椎动物的不同组织就通过这三个胚层形成，并保持原肠胚时期的基本身体结构。

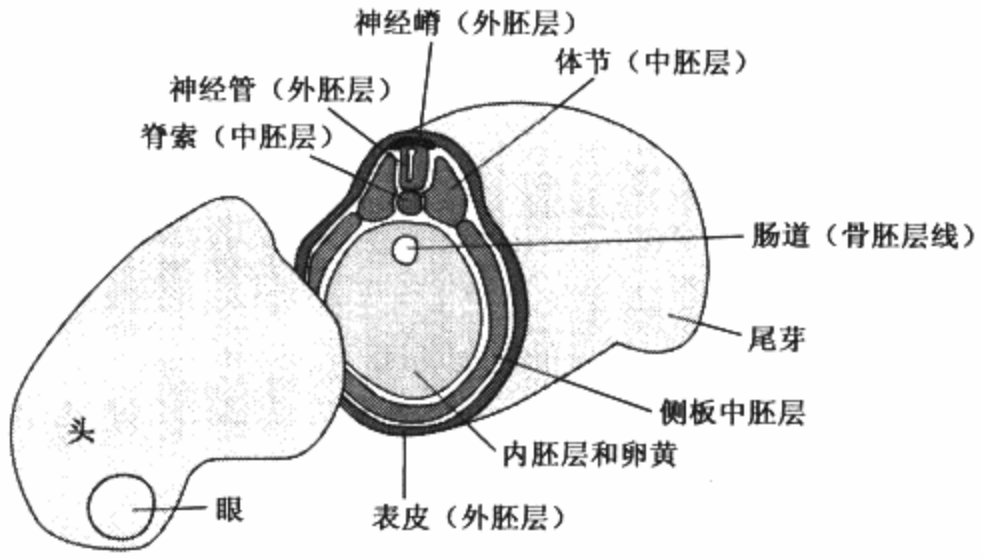


图 21-70　两栖类胚胎原肠胚发育后期躯干横切图，图中显示了外胚层、中胚层和内胚层

内胚层将形成从口到肛门的肠道内皮。它不仅将形成咽、食道、胃和肠道，还形成许多相关腺体，如唾液腺、肝脏、胰脏、气管和肺。它们都来源于消化道外壁，并形成开口于肠道和咽部的管状分支系统。外胚层仅形成这些结构的表皮结构——肠道内皮和胰腺的分泌细胞等。起支持作用的肌肉细胞和纤维细胞来源于中胚层

中胚层形成了连接组织——开始是松散的、三维网状的用来填充空间的间充质细胞，最终将会成为软骨、硬骨和包括真皮在内的纤维组织。中胚层同样会形成肌肉和所有的脉管系统，包括心脏、血管和血细胞，还有肾脏和生殖腺的管道和支持组织

外胚层将会形成表皮（皮肤的最外层）和表皮附属物，如头发、汗腺和乳腺。它同时还会形成整个神经系统——中央神经系统和外周神经系统，不仅包括神经元细胞和神经胶质细胞，还包括鼻子、耳、眼和其他感觉器官的感觉细胞（改自 T. Mohun et al.，*Cell* 22：9～15，1980）

原肠胚运动是可被精确预言的

正如图 21-71 所示，爪蟾原肠胚运动形成的图案建立了三个胚层和身体的体轴。具体内容是比较复杂的，但其原理是简单的。将要发育为内胚层的细胞向内折叠。靠近囊胚植物极的细胞首先向内卷曲，并向动物极移动形成了肠道的最前端。当它们接近动物极时，这些前部的内胚层细胞向交叠的外胚层细胞发出信号使其发育为头的前部末端。口将在外胚层和内胚层直接连接的前部位点形成一个洞。同时，未来的中胚层细胞从表皮层分离并在内胚层和外胚层中间形成三明治结构，与内胚层细胞一起向内折叠并向动物极运动。首先消失的细胞形成了头部，随后消失的细胞形成了尾部。通过这一方式，胚胎的前后轴就顺序产生了。相互联系的前后轴运动形成了身体的背腹轴。原肠胚从囊胚的那些通过皮层旋转标记的背部开始。细胞向内卷曲是从一个小的缺口快速扩展形成胚孔开始的，胚孔是一条围绕植物极内卷的线。正如我们看到的，这一组织在随后的事件中起着主导作用并促使体轴中央背部结构的形成。

化学信号引发机械过程

原肠胚的运动是由植物极分裂球的化学信号引发的。这些细胞分泌了 TGFb 家族的一些蛋白质并对其上面的细胞发生作用。如果这些信号被阻断，原肠胚运动就会被阻断并且没有中胚层细胞形成。胚胎背部 Wnt 信号通路成员的激活能够改变其他信号通路的激活状态，从而诱导特定的细胞形成背唇（图 21-72）。胚孔的背唇对原肠胚形成具有重要的意义，不仅仅是因为其几何学意义，而且是一个强大的控制源。如果原肠胚刚开始发育的胚胎的背唇被切除，并被移植到另一个胚胎的其他位置，受体胚胎就会在其自身的背唇和供体背唇处开始原肠胚运动。在第二位点的原肠胚发育就会产生一个完整的身体结构，从而产生双胚胎［图 21-6（B）］。

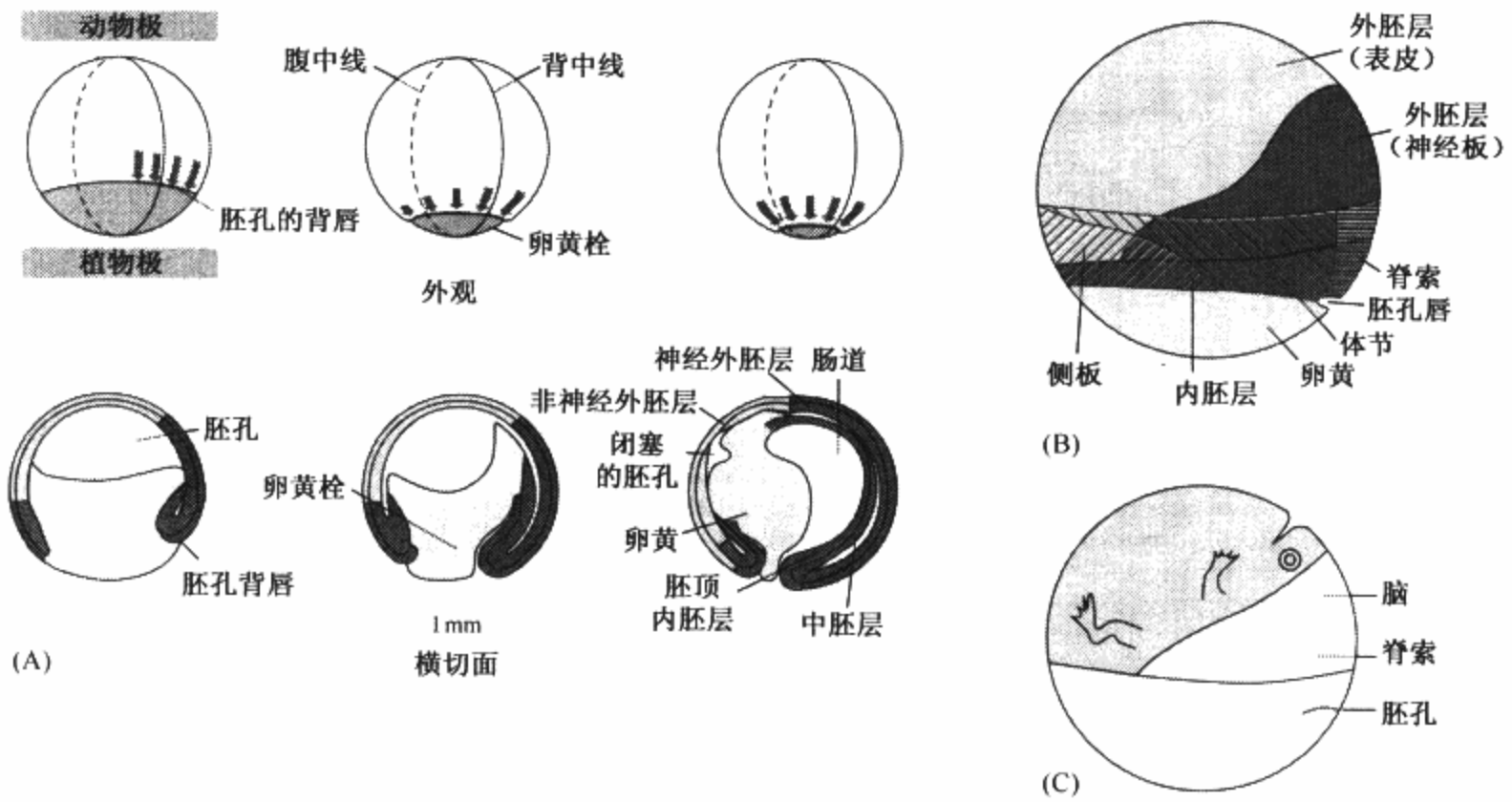


图 21-71　爪蟾的原肠胚运动

(A) 从胚胎外部侧面看，胚胎像一个半透明物体，红色箭头表示细胞运动方向。原肠胚运动开始于囊胚外侧出现了一个小的缺口。这个缺口会逐渐地延伸。同时，细胞也会从胚孔的背唇处向内卷曲进入胚胎内部。动物极的上皮细胞扩展并代替了进入胚胎内的细胞。动物极上皮细胞的扩展覆盖了整个胚胎，当原肠胚运动完成后，囊胚仅留很小的一点。(B) 爪蟾原肠胚早期细胞命运图。图中显示了随着原肠胚运动将会形成三胚层的细胞区域（引自 R. E. Keller, *J. Exp. Zool.* 216：81～101，1981 和 *Dev. Biol.* 42：222～241，1975）

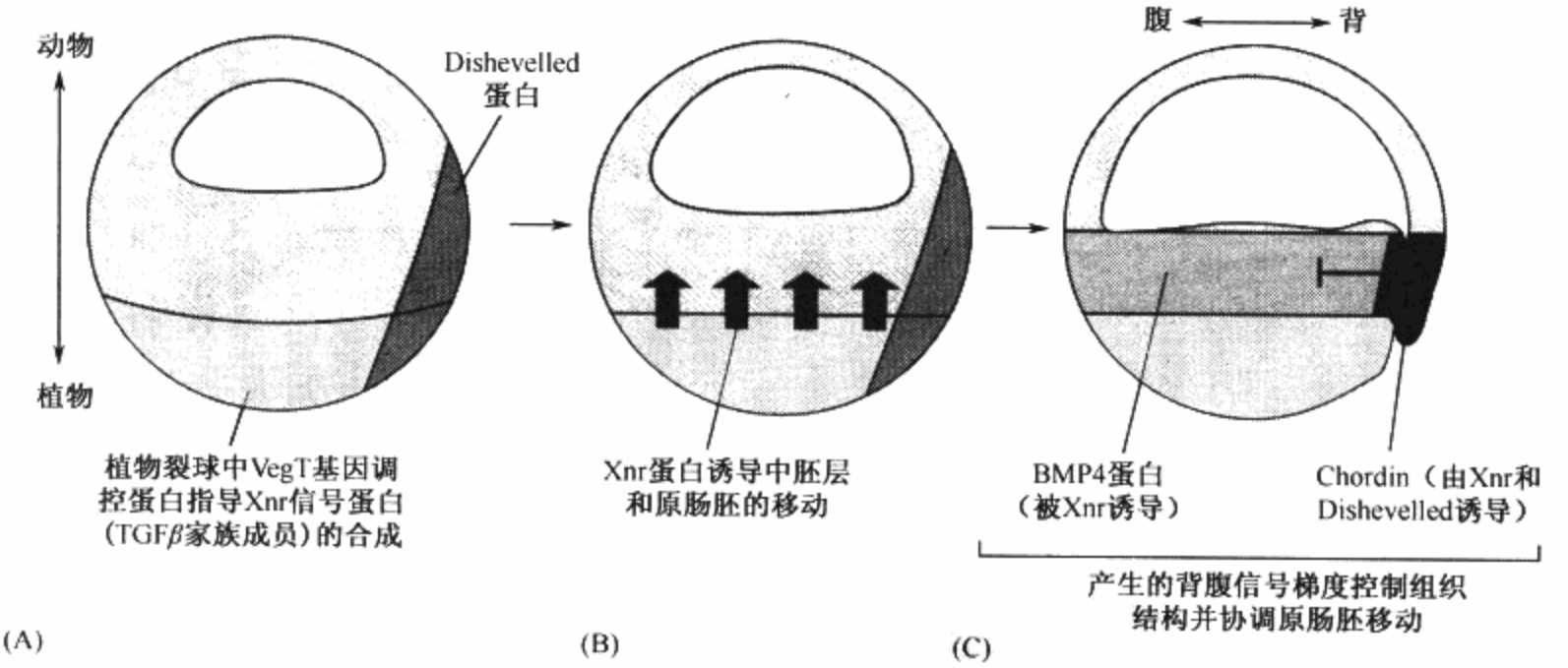


图 21-72　控制原肠胚运动的诱导信号

(A) 囊胚中体轴决定分子的分布依赖于继承了受精卵中不同的细胞质成分。VegT 基因调控蛋白是在受精前就聚集在植物极的 VegT mRNA 翻译而来的。Dishevelled 蛋白在受精后聚集到了胚胎的背部。(B) 有植物极细胞向其上部细胞传导的信号由 Xnr 蛋白和 TGFβ 超家族的其他蛋白质调控。(C) 控制背腹轴的形态发生数浓度梯度由中胚层分泌的 BMP4 和背唇分泌的 BMP4 拮抗物共同组成

显然，胚孔的背唇是调控原肠胚运动和其周围组织图案形成的信号源。由于其对体轴形成的重要作用，背唇被认为是组织中心。它是最早的也是最有名的胚胎信号中心。

细胞包装改变为原肠胚运动提供了动力

组织中心通过分泌蛋白来控制其周围细胞分化的背腹图案，这些蛋白质包括抑制腹部细

胞产生的 TGFβ-like 信号的 chordin 蛋白［图 21-72（C）］。这样就建立了一个形态发生素的浓度梯度，并告诉细胞距离组织中心有多远（图 21-14）。但是细胞运动的图案是怎样以机械的方式被组织起来的呢？什么是引起这一过程的动力呢？原肠胚发育是由胚孔处细胞形状的改变开始的。在两栖类动物中这些细胞被称为瓶状细胞：它们有很大的体型和能够将它们锚定在表皮上的很细的颈部（图 21-73），它们可能帮助上皮细胞内卷，产生最初的缺口。一但最

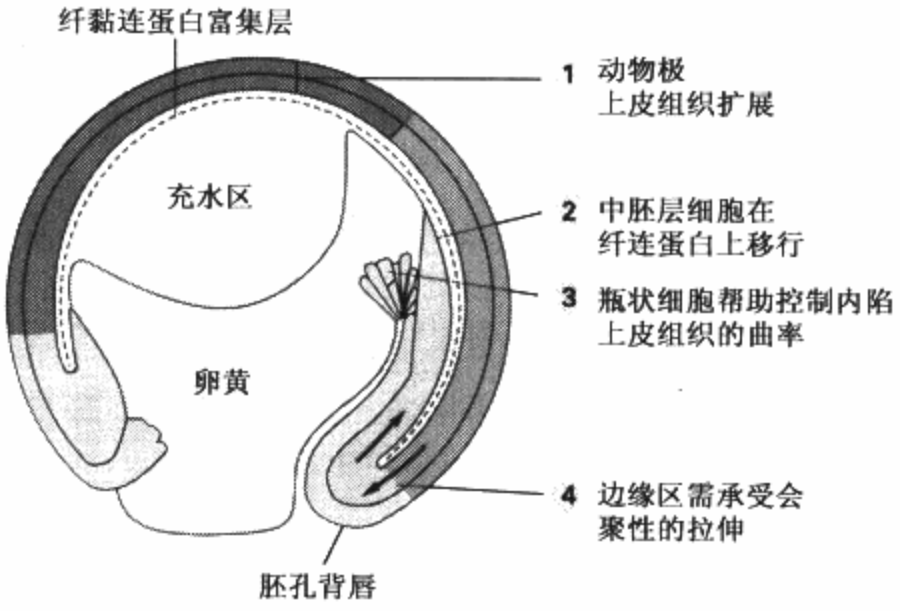


图 21-73　原肠胚发育中的细胞运动

原肠胚时期爪蟾胚胎横切图，与图 21-71 所示部位相同，显示了 4 种主要的细胞运动。动物极细胞通过细胞重排向外扩展并且细胞变薄。中胚层细胞向纤粘连蛋白富集的囊胚腔顶部运动，能够促进内卷组织运动。但是爪蟾原肠胚运动的主要动力是边缘区域的内卷和延伸（引自 R. E. Keller，*J. Exp. Zool.* 216：81～101，1981）

初的内卷完成，细胞就可以继续向内卷曲并形成肠道和中胚层。这些运动过程看起来是被细胞的重新包装驱动的，尤其是那些靠近组织中心的内卷的细胞（图 21-73）。这里就发生了内卷延伸过程。将这一区域的一部分组织分离培养，通过一系列的细胞重排就可以形成窄而长的结构，就如同它们在胚胎中向背部中线卷曲的过程一样，向胚孔背唇内卷并延伸形成体轴。

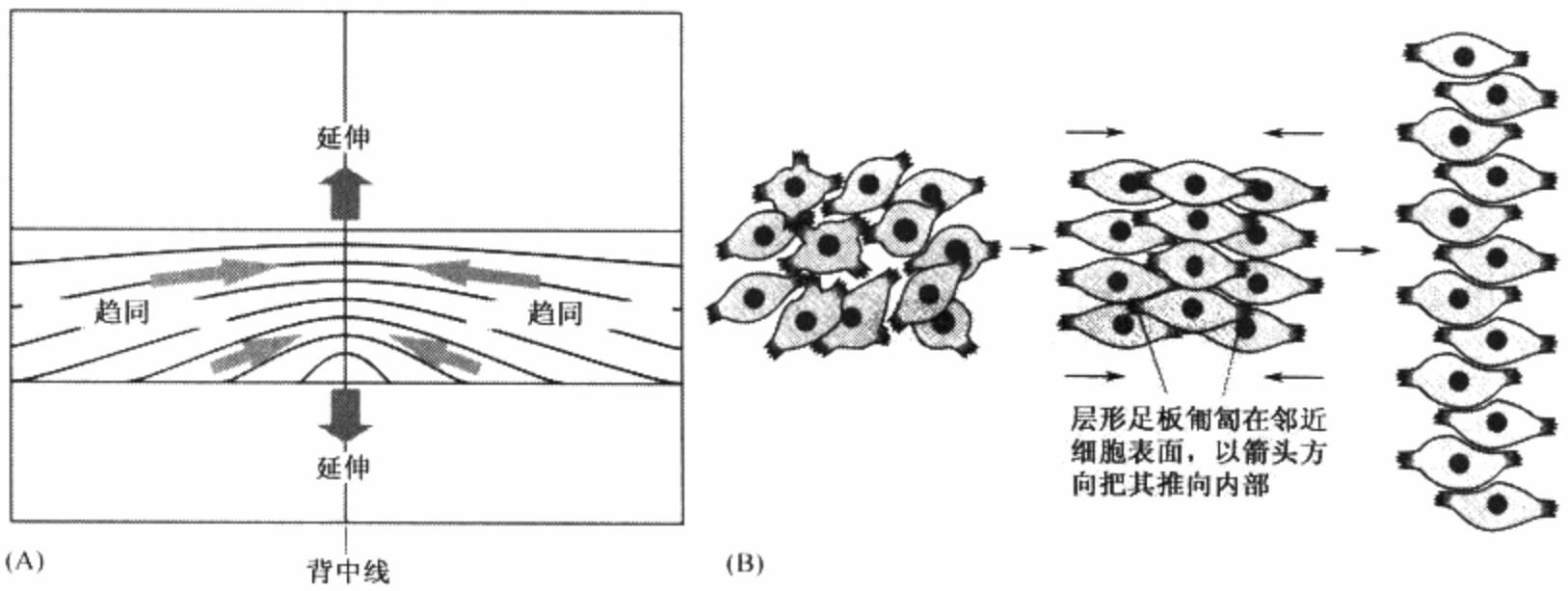


图 21-74　内卷延伸及其细胞内基质

（A）原肠胚边缘区域内卷延伸运动的背部观。蓝色箭头表示向背部中线内卷，红色箭头表示前后轴的延伸。简图并没有显示相应的全部内卷过程，仅仅显示了进入胚胎内部的细胞。（B）内卷延伸运动的示意图。细胞排列成一层，并开始相互交错。这些细胞按照一定轴排列形成了内卷延伸运动。这一过程依赖于 Frizzled/Dishevelled 极性信号通路的调控，并且这些细胞能够促使周围细胞也进行一样的运动，所以这一运动具有一致性［(B) 引自 J. Shih 和 R. Keller，Development 116：901～914，1992］

为了促使这一标志性的转变发生，每个细胞必须按一定方式向前移动（图 21-74）。它们运动的队列形成依赖于和线虫、果蝇控制平面细胞极性一致的机制：Frizzled/Dishevelled 极性信号通路。当通过表达显性抑制形式的 Dishevelled 来阻断这一信号后，就不能发生内卷延伸过程。

细胞间粘连分子的改变促进细胞重排

基因表达通过多种不同方式来控制胚胎细胞的运动、细胞形状和产生方向诱导信号。更重要的是，它们还决定细胞表面的粘连分子。通过改变这些表面分子，细胞就可以失去原有的连接而产生新的连接。某一区域内的细胞可以通过改变这些表面性质来彼此连接并与周围那些表面化学物质不同的细胞分离开来。

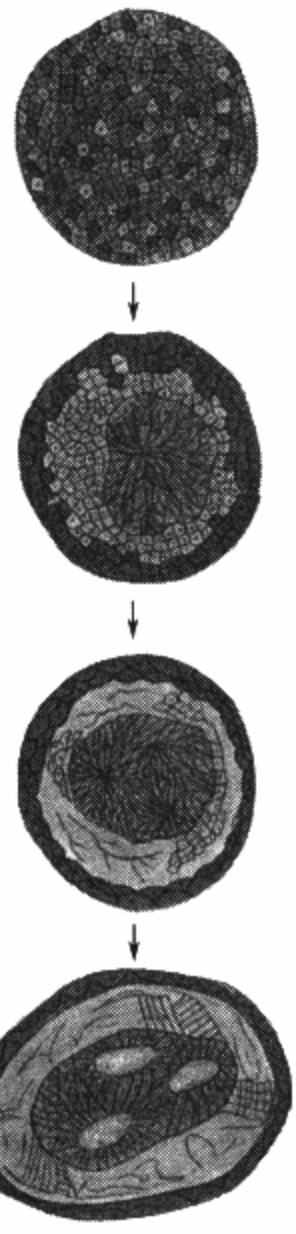


图 21-75　分选
来源于两系动物早期胚胎不同部分的细胞会根据它们的来源被分选出来。经典实验显示，中胚层细胞（绿色）、神经细胞（蓝色）和上皮细胞（红色）都聚集并形成了混合物。它们被分选并重新排列成胚胎，神经管在内部、表皮在外部、中胚层在中间（改自 P. L. Townes and J. Holtfreter，*J. Exp. Zool.* 128：53～120，1955）

一百年前对早期两栖类动物发育研究就发现，选择性的细胞-细胞间连接的作用有很强大的作用，以至于能够让已被人工解离的早期原肠胚发育前胚胎重新形成正常的结构。当细胞重排形成随机混合物后，这些细胞可以根据它们原有的特征自行分开（图 21-75）。正如我们在第 19 章中提到的，钙黏素（一个依赖于钙离子的细胞）细胞间粘连蛋白家族在这一过程中起着重要的作用。它们和其他的一些细胞-细胞粘连分子在早期胚胎不同组织中表达不同，抗体显示在相似类型细胞间具有相同的钙黏素。

各种钙黏素表达图案的改变与原肠胚发育、神经形成、体节形成等过程中细胞图案的改变相关（图 19-35）。这些过程似乎受到钙黏素图案的影响。并且，钙黏素在控制表皮细胞的分散和细胞聚集中也有重要作用。它们不是简单地将细胞彼此连接，而且还为细胞内肌动蛋白纤维提供了锚定位点。通过这一方式，发育中组织的运动就依赖于细胞间连接的图案。

脊索延伸，神经板卷曲形成神经管

原肠胚发育包括多种细胞运动，这些运动塑造了身体的各个部分。下面我们将介绍其中的一部分。

在原肠胚发育后胚胎中，中胚层被分为身体左右两侧的两部分。其中**脊索**决定了身体的中轴并对这些中胚层区域产生影响。这些细胞外面由外胚层包被，下面是内胚层，中胚层在其两侧（图 21-70）。脊索细胞表达基因调控蛋白 Brachyury，它和 VegT 蛋白一样属于 T-box 家族。

当脊索细胞穿过胚盘的背唇迁移到胚胎内部，它们形成一个柱状组织并开始延伸。同时这些脊索细胞也开始变大，内部形成空泡，并继续延伸直到扩展到胚胎外。脊索是所有脊索动物具有的特征，也是脊椎动物的主要特征之一，而果蝇却没有。在许多原始的脊索动物中，并没有脊椎，脊索仅仅是原始的脊椎替代物。在脊椎动物中，脊索被其他中胚层细胞包被并形成了脊椎。

同时，在外部包被的外胚层运动形成了神经系统。在神经形成过程中，被称为神经板的中央外胚层卷曲形成管状并脱离其他的细胞。这个由外胚层形成的管状物就是**神经管**。它将形成未来的脑和脊椎（图 21-76）。

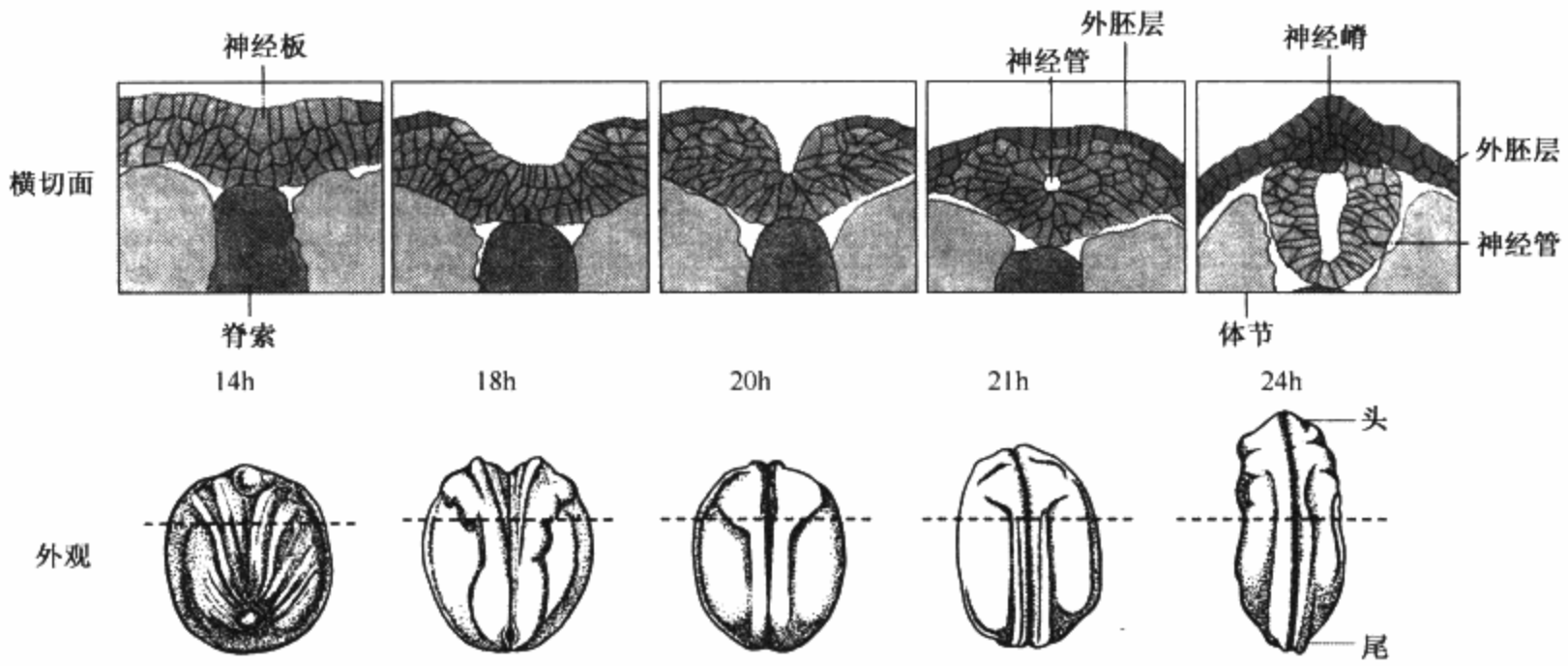


图 21-76　爪蟾神经管的形成

图为由背部观察的外面观。切线标出了横切的位置（引自 T. E. Schroeder，*J. Embryol. Exp. Morphol.* 23：427～462，1970. © The Company of Biologists）

神经形成的机制依赖于细胞包被和细胞形状的改变使表皮上卷形成管状（图 21-77）。组织中心的信号和随后脊索、中胚层产生的信号决定了神经板的形成并促使其运动上卷，最终形成神经管。脊索分泌 Sonic Hedgehog 蛋白（果蝇中 Hedgehog 的同源物）并使其作为形态发生素控制周围组织的基因表达（图 21-94）。

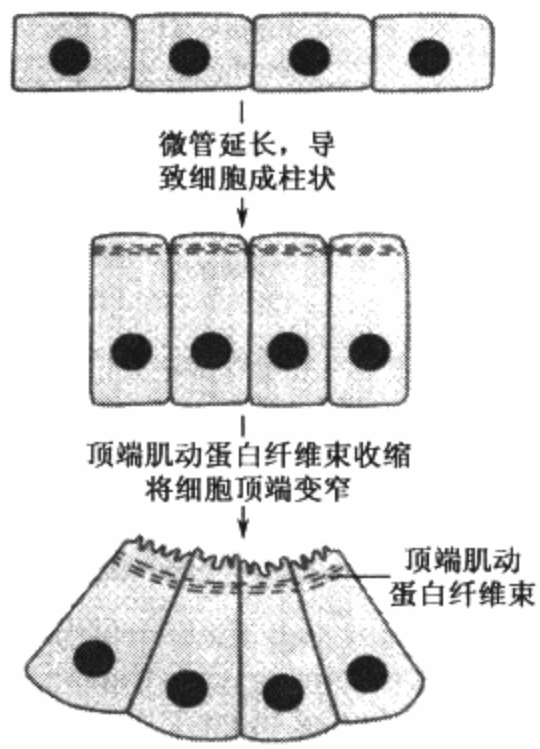


图 21-77　由微管和肌动蛋白纤维调控的细胞形状改变导致的上皮细胞弯曲

蝾螈和蜥蜴神经化过程，表皮细胞仅有一细胞厚。顶端开始变窄，上表面细胞膜开始皱缩

基因表达振荡器控制了中胚层形成体节

细胞连接的改变控制了一个脊椎动物发育中最有特征最神奇的过程——身体体节的形成。

神经管的两侧分布有中胚层（图 21-70）。为了形成重复的脊椎、肋骨和体节肌肉，这些中胚层细胞形成了许多独立的区块，或称为**体节**，即有裂缝分割的黏着在一起的细胞群。图 21-78（A）显示了鸡胚中的这一过程。体节从头部开始到尾部结束，一个接一个形成。由于物种的不同，最终的体节数大概有少于 50 个的（爪蟾或鸟类），也有多于 300 个的（蛇）。后部是最不成熟的中胚层，被称为预体节化中胚层，提供了所需的组织：其向尾部延伸并扩展了胚胎形成了尾部体节。

预体节中胚层的基因表达空间图案的改变决定了体节中间的裂缝的形成。将要形成新体节后部的细胞表达一组基因，而形成另一个体节前部的细胞则表达另一组基因。通过这种方式决定体节图案的基因包括钙黏素超家族。基因表达不同导致的选择性连接导致了体节的形成。

随之而来的问题就是，这种基因表达的图案是怎样建立的。通过对鸡胚的研究，我们找到了答案。在预体节中胚层的后部表达某些特定基因，包括 *c-hairy-1*，果蝇中成对控制基因

hairy 的同源物。这个基因的表达周期与产生一个体节的时间相同。当细胞成熟并从预体节中胚层形成体节时，它们的周期停止。*c-hairy-1* 编码了基因调控蛋白，停留在 *c-hairy-1* 表达顶点的细胞表达一组基因，而停留在 *c-hairy-1* 表达谷底的细胞表达另外一组基因［图 21-78（B)］。通过这种方法，预体节中胚层的基因表达空间图案就与成熟体节的基因表达图案相对应。

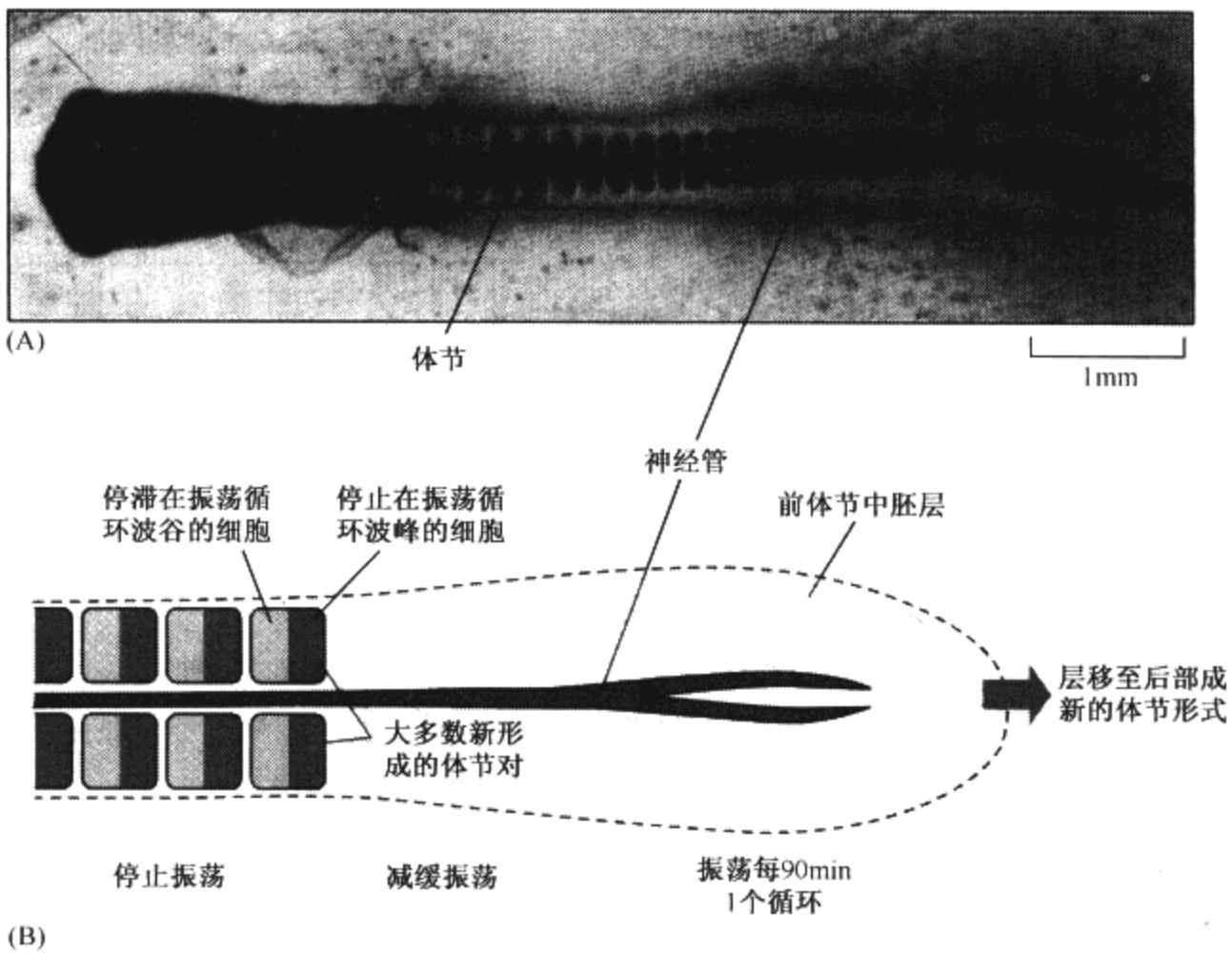


图 21-78　鸡胚的体节形成

（A）40h 的鸡胚。（B）图中所示预体节化中胚层中 *c-hairy-1* 基因的表达周期与一节中基因表达空间形式如何对应的。在预体节化中胚层的前部，每个细胞有 90min 的周期。当细胞成熟并在预体节化中胚层区域出现时，它们的周期开始减慢并最终停止下来，这样基因表达的时间周期就对应于可变的空间图案［（A）来自 Y. J. Jiang. L. Smithers 和 J. Lewis，Curr. Biol. 8：868～871，1998，© Elsevier］

每一个新形成的体节中，大部分细胞都会迅速分化形成肌肉，对应于沿身体体轴的肌肉体节。胚胎可以开始扭动。其余的体节细胞将会形成脊椎及皮肤。还有一些细胞将会穿过其他细胞间的空隙，迁移到未分节中胚层中，它们将会形成身体其他部位的肌肉，包括附肢的肌肉。

胚胎组织被迁移细胞侵袭

肌肉细胞前体细胞在体节处形成，其命运已经被决定但尚未进行分化。在其侵袭的组织中将与其他的细胞混合，但它们会表达特定的成肌细胞基因调控蛋白（如 MyoD 家族成员），当到达分化时间后，它们就开始各自分化为肌肉细胞（图 21-79）。

最终的肌肉图案（如附肢中的）是由迁移细胞的路线和侵袭的位点决定的。成肌细胞穿过由胚胎连接组织形成的框架并为细胞的分布提供了信号。不论这些成肌细胞来自于哪个体节，那些迁移到前肢的细胞将会形成适应前肢的肌肉图案，而迁移到后肢的细胞将会形成适应后肢的肌肉图案。

同时，其他的迁移细胞选择它们不同的迁移路线。在神经管从表皮内卷的部位，一部分外胚层细胞脱离表皮并各自向中胚层迁移（图 21-80）。它们就是**神经脊**细胞，它们将会成为外周神经系统的全部神经细胞和神经胶质细胞，皮肤的胶质细胞和头部连接组织，包括头骨和指甲。其他一些重要的细胞迁移包括血液细胞前体细胞、生殖细胞和中央神经系统其他类型神经元、血管内皮细胞等。这些细胞都会侵袭其各自特定的地方。这样细胞迁移的结果就是，脊椎动物中的组织是身体不同部分不同类型细胞的混合体。

当迁移细胞穿过胚胎组织时，它们重复地扩展伪足来探测周围的环境，通过细胞表面受体蛋白感受周围信号。细胞内，这些受体蛋白与细胞骨架连接。一些细胞外基质，如纤粘连蛋白为细胞提供了黏着位点，其他蛋白质如硫酸软骨素蛋白聚糖，抑制运动和非正常迁移。那些不迁移的细胞可能具有排斥表面，或具有丝状伪足来感受迁移细胞并影响其行为。

迁移细胞的分布依赖于生存因子和诱导信号

迁移细胞的最终分布不仅依赖于它们迁移的路线，并且依赖于它们在迁移中和最终位点是否可以生存下来。特定类型的迁移依赖于特定位点提供的生存因子。例如，神经脊细胞形成皮肤的色素细胞或肠道的神经细胞依赖于迁移路线上组织分泌的 Endothelin-3。小鼠或人中这一基因的缺失或其受体缺失都会导致没有缺少色素细胞或肠道内神经系统。

生殖细胞、血液细胞前体细胞和神经脊而来的色素细胞都含有至少一个共同生存条件。这包括一个跨膜受体蛋白——kit 蛋白，其分布于迁移细胞的细胞膜上，和配体 Steel 因子，由迁移过程中细胞和定居处细胞分泌。缺失这些基因后都会导致缺少色素细胞、血液细胞和生殖细胞（图 21-81）。

脊椎动物身体的左右不对称性由早期胚胎分子不对称性决定

脊椎动物从外面看来是左右对称的，但其内部器官如心脏、胃和肝等都是高度不对称的。这一不对称性是高度保守的：99.98%的人心脏在左侧。我们已经知道脊椎动物胚胎的内部和外部组织是怎样发育的，前后轴和背腹轴是怎样形成的，但它的左右不对称性是怎样产生的呢?

哺乳动物遗传学研究发现这一问题可以分为两个不同的问题：一个是这一不对称性是怎样产生的，另一个是这一不对称性的方向。人和小鼠的一些突变可以导致左右轴的随机

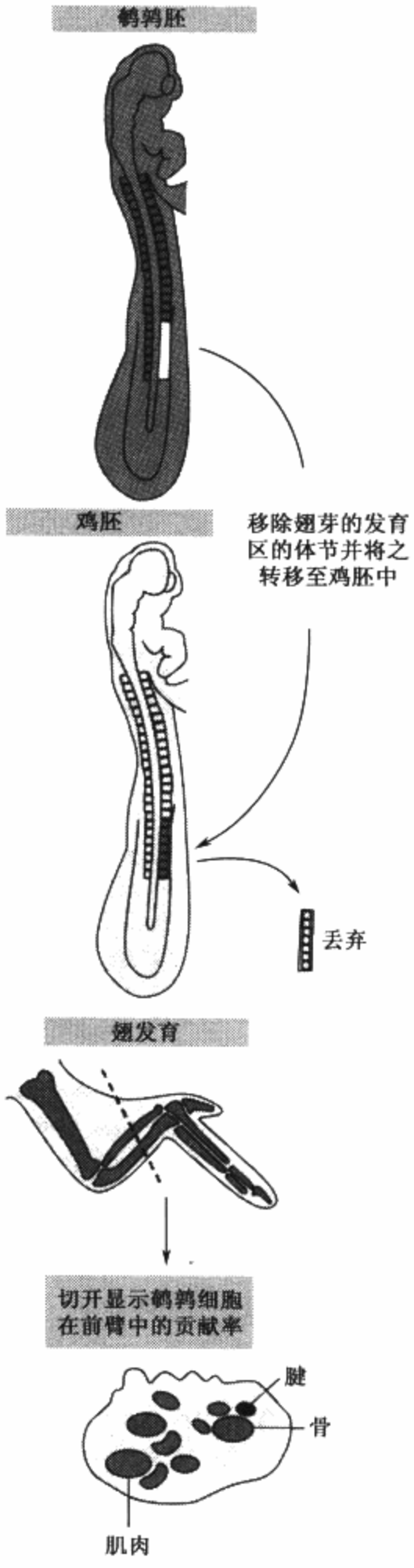


图 21-79　附肢肌肉细胞的迁移方向
我们将鹌鹑胚胎的细胞移植到鸡胚中来标记观察细胞迁移。两个物种的发育相似，但通过核仁我们可以区分鹌鹑细胞。如果将鹌鹑体节细胞移植到 2 天的鸡胚体节中，一周后将鸡翅切开，我们发现鸡翅的肌肉细胞是由移植的鹌鹑体节细胞分化来的

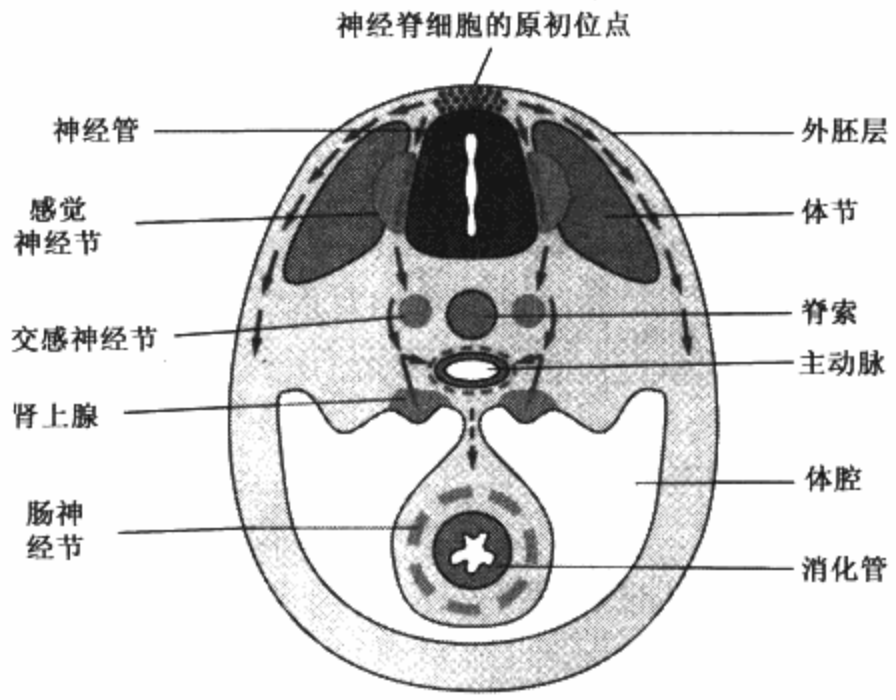


图 21-80　神经脊细胞迁移的主要信号通路

图中所示为鸡胚躯干中部的横切图。外胚层下面的细胞会成为皮肤的色素细胞，通过体节的细胞会成为感觉和交感神经及部分肾上腺的神经细胞和神经胶质细胞。肠道神经中枢的神经细胞和神经胶质细胞由起源于颈部和荐骨的神经脊细胞沿身体迁移形成。在果蝇中，肠道的神经细胞也是类似的方式形成，由胚胎的头部开始前移（见图 19-23）

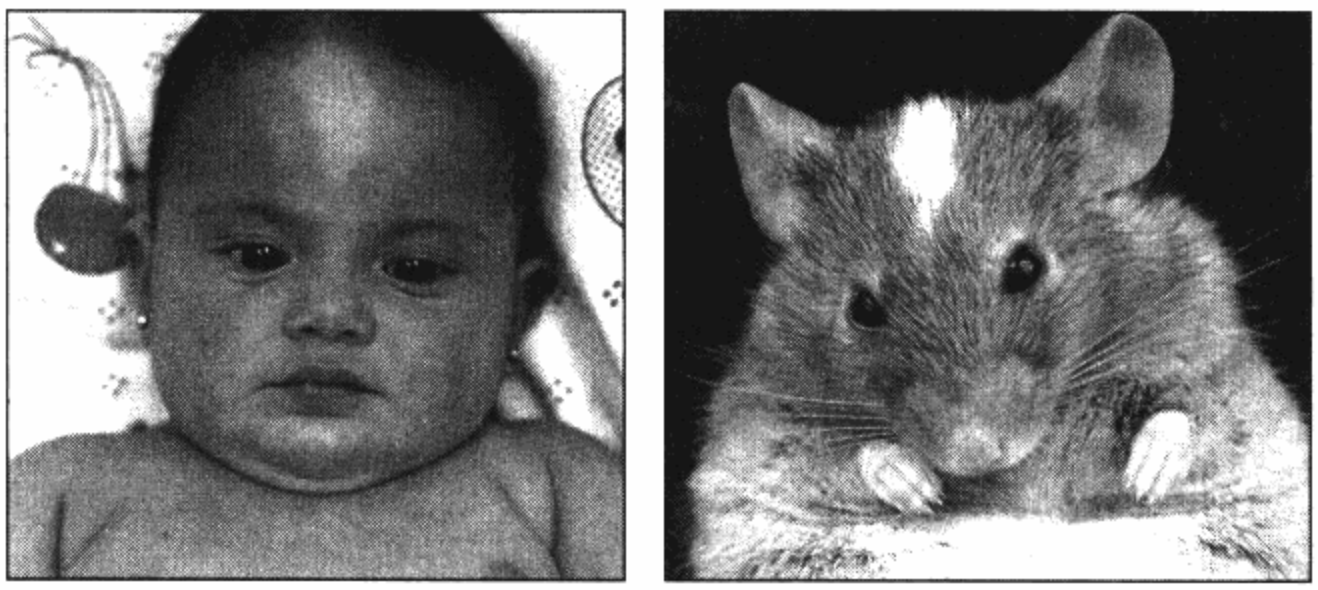


图 21-81　*kit* 基因缺失的作用

小孩和小鼠都是缺失突变的杂合子，*kit* 基因产物仅有正常量的一半。两者都缺少色素，因为色素细胞需要 *kit* 基因产物作为存活因子的受体（经 R. A. Fleischman 允许，from Proc. Natl. Acad. Sci，USA 88：10885～10889，1991. © National Academy of Sciences）

选择：50%的突变体按照正常的方式排列其内部器官，另外的 50%相反，心脏在右边。在这些个体中，决定左右两侧不同的机制是正确的，但决定左右轴方向的机制却是错误的。

这一现象的主要依据是发现了先于解剖学不对称性的分子不对称性。最早的标记是脊索周围细胞基因标的图案，发现了在小鼠和鸡中与爪蟾组织中心表达的同源物。TGFβ 家族中的一些成员在这个区域中不对称表达（不仅在小鼠中，还包括了鸡、爪蟾和斑马鱼），包括 SHH 信号在内的其他信号也不对称表达（图 21-82）。这些因子相互调控，产生了级联效应，通过这一效应就在脊索周围产生了基因表达的不对称性，并将这一不对称性向更远的地区传递。

这些信号中成员的突变将会导致不对称性的丧失，也就是说会产生镜向对称的胚胎。例

如，*Lefty-1*（TGFβ家族成员）基因敲除的小鼠往往其右边身体和左边是镜向对称的。促使左右两边分化的机制我们尚不了解。但可以肯定，脊索两侧的细胞虽然在外面看来没什么不同，但实际已经开始分化了。一种可能性就是存在某些侧向抑制调控：脊索两侧的细胞相互交换抑制信号，相互竞争产生左侧特征或右侧特征。也有可能是原本在中线附近产生的具有重要影响力的细胞由于新的中线的产生而被驱逐到了中线的一侧。

不管是怎样的机制，在正常动物脊索处发生的事件是有偏向性的，左侧特异性基因在左侧被激活表达：不对称性建立的机制和不对称性方向选择机制间必然存在一定的联系。一些不育的人的精子由于缺少鞭毛和纤毛游动的动力蛋白分子而不能游动。这些人由于呼吸系统中纤毛缺陷还患有慢性支气管炎和窦炎。奇怪的是，50%的人内部器官左右颠倒，心脏长在了右边。这些发现最初觉得是很神秘的，其他一些纤毛缺陷的突变体也有类似的作用。这些都表明鞭毛鞭打对左右体轴的建立有一定作用。

通过显微镜跟踪观察小鼠胚胎我们发现，脊索细胞在其内表面有鞭毛以螺旋方式鞭打：就好像螺纹一样，它们有着明显的左右方向习惯性。这一过程中的信号分子可能为小鼠左右体轴的建立提供了线索。鞭毛鞭打的左右习惯性可能影响了所有生物体器官分子的左右习惯性，即左右不对称性。似乎这也就是最终决定我们左右不对称性的因素。

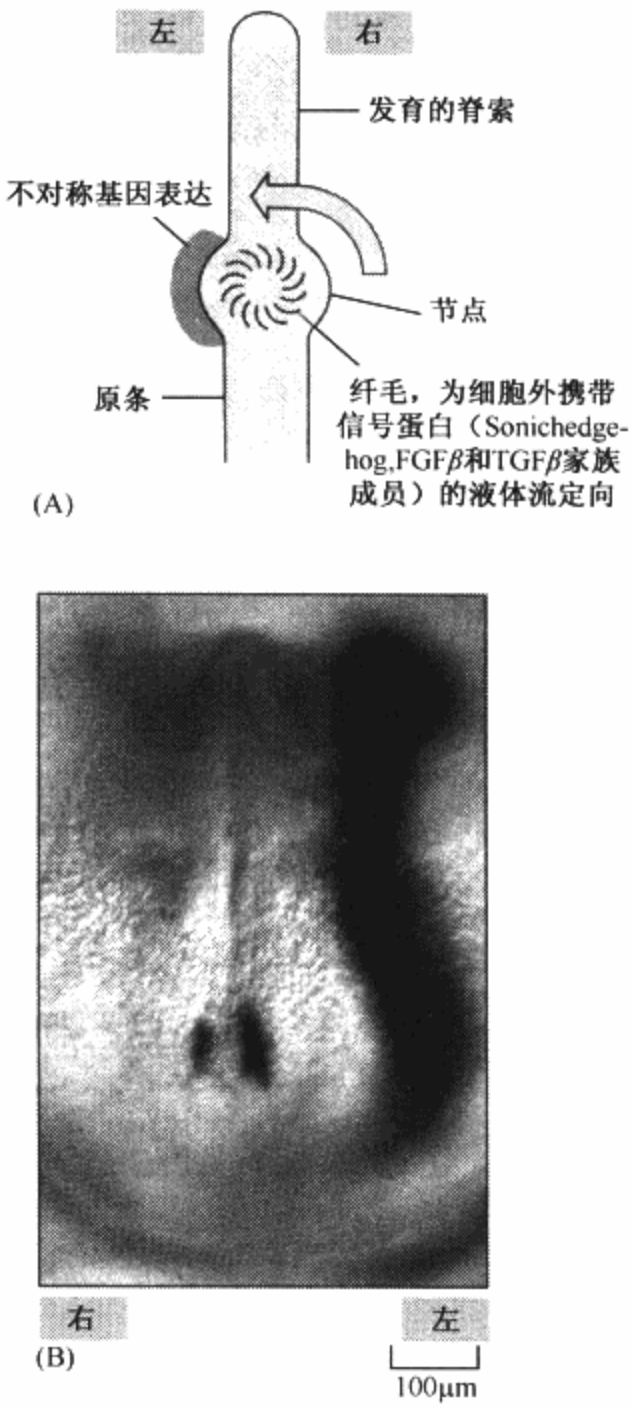


图 21-82　鞭毛在节点处的螺旋鞭打和左右不对称性的发生

(A) 鞭毛总是向节点的一侧鞭打。在这周围产生了许多信号分子，水流使它们聚集到了一侧，促使包括信号蛋白在内的许多基因不对称表达。(B) 图中所示为 8 天小鼠胚胎中原位杂交检测的 TGFβ 家族的 Nodal 蛋白的不对称性表达（两个蓝点）。与此同时，不对称性表达也延伸到了侧面中胚层，Nodal 只表达在左侧而不在右侧。由于这个图是腹面观，所以图中的右侧实际上是胚胎的左侧

[(B) 经 Elizabeth Roberston 许可]

小结

动物的发育包括很多有趣的细胞运动。在原肠胚运动中，胚胎外部的细胞向内部卷曲形成肠道和三胚层——外胚层、中胚层、内胚层，这些在构成生物体。在脊椎动物中，原肠胚运动是由组织中心的信号调控的。这些信号调控身体的背腹轴并控制细胞延伸过程，在这一过程中细胞向内部卷曲并沿着头尾体轴延伸。单个细胞的重新包装驱动下包延伸过程是由 Frizzled/Dishevelled 平面极性信号通路来控制的，这一信号通路是调控肌动蛋白细胞骨架的 Wnt 信号通路的分支。

随后的发育包括更多的细胞运动。部分外胚层增厚、上卷并分离形成神经管和神经脊。在中线，一些特定的被称为脊索的细胞延伸形成了胚胎的中轴。脊索两侧的中胚层分节形成了体节。迁移细胞，如这些神经脊细胞与周围细胞分离并移动到胚胎的新位置。特定的细胞间连接分子如粘连蛋白、整合素等都介导了迁移并控制了重新排列中的选择性粘连。

细胞运动的图案是由基因表达的图案直接决定的，基因表达决定了细胞表面性质和运动性。因此，体节的形成依赖于特定的基因表达，这些基因在中胚层中被生化机制抑制并且介导了大量细胞向独立区域运动的方式。同样，脊椎动物身体的左右不对称性也是早期胚胎基因表达的不对称性决定的。至少在哺乳动物中，这一不对称性是由脊索周围细胞鞭毛特定左右习惯性鞭打导致的。

小鼠

小鼠胚胎（小且在母鼠子宫内难以观察）对发育生物学家提出了严峻的挑战。然而，它却有两个很吸引人的地方。首先，小鼠是哺乳动物，哺乳动物是最接近我们人类的动物。其次，它也是最便于进行遗传学研究的哺乳动物之一，因为其个体小且易于饲养。随着实验工具的发展，我们为此进行了大量的研究。通过这一方法，小鼠成为哺乳动物遗传学研究中最理想的模式生物。它们在进化上大约在一亿年前和人类分离，并且基因组大小与我们人类相似，小鼠与人类的基因也存在着一一对应的关系。我们的蛋白质序列有 80%～90%的一致性，当比较调控 DNA 序列时，也存在大片段的核苷酸序列相似性。

通过长期努力，发育生物学家已经找到了许多方法可以不杀死小鼠获得早期胚胎并获得特定基因突变的小鼠。在果蝇、线虫和斑马鱼中的遗传改变也可以在小鼠中实现，某些情况下还更好。在小鼠中研究经费是很大的，但其成果颇丰。所以，小鼠成为了我们对发育分子遗传学机制了解的一个主要来源，不仅是对哺乳动物也是对其他动物了解的理想模式系统。例如，我们对同源异型基因、左右不对称性、细胞死亡控制、Notch 信号作用等许多问题的了解都来自于小鼠。

我们已经介绍了最新的小鼠研究工作。我们将在下面的章节进行更多的介绍，主要是成体组织和其发育过程。在这些部分中，我们检测那些可以进行遗传操作的小鼠发育特征。在举例说明这些前，我们要首先说明怎样利用小鼠来研究这些重要的发育过程——通过胚胎连接组织和表皮的相互作用来产生肺和生殖腺。

哺乳动物发育具有特异的开始方式

哺乳动物的胚胎以其独特的方式开始发育。由于受到子宫的保护，胚胎不用像其他物种那样快速地进行早期发育。而且，胚盘的发育可以提供母源营养，所以卵细胞不比像卵黄那样储存大量的物质。小鼠的卵细胞直径大约是 80μm，体积也只是一般两栖类动物的 1/2000。其细胞分裂速度也不比常体细胞分裂快，并且在两细胞期就开始了基因转录。更重要的是，哺乳动物后期发育与爪蟾等脊椎动物相似，也要经过多次发育形成复杂的结构——羊膜囊和胚盘，它们可以保护胚胎并与母体进行代谢交换。这些结构与其他的身体结构来源于受精卵，但由于出生后会脱落，不会成为成体的一部分，所以被称为胚胎外结构。类似的结构在鸟类和爬行类动物的胚胎发育中也会出现。

图 21-83 概述了小鼠的早期发育。受精卵在受精 3 天后分裂产生 16 个细胞。起初，细胞彼此松散地连接，但在 16 细胞后它们彼此连接并挤压形成一个实心的细胞球体——桑椹胚（图 21-84）。细胞间形成了紧密连接，从桑椹胚内部脱离形成了外部介质。在此之后，内部空腔开始发育，桑椹胚变成了囊胚。外层细胞形成了球体的外壁——滋养外胚层，其将会成为胚胎外组织。内部细胞将会聚集在腔内一侧，其将会发育为整个胚胎。

当胚胎从其软舱内出来后（大约 4 天），滋养外胚层细胞就会紧贴在子宫壁上，开始形成

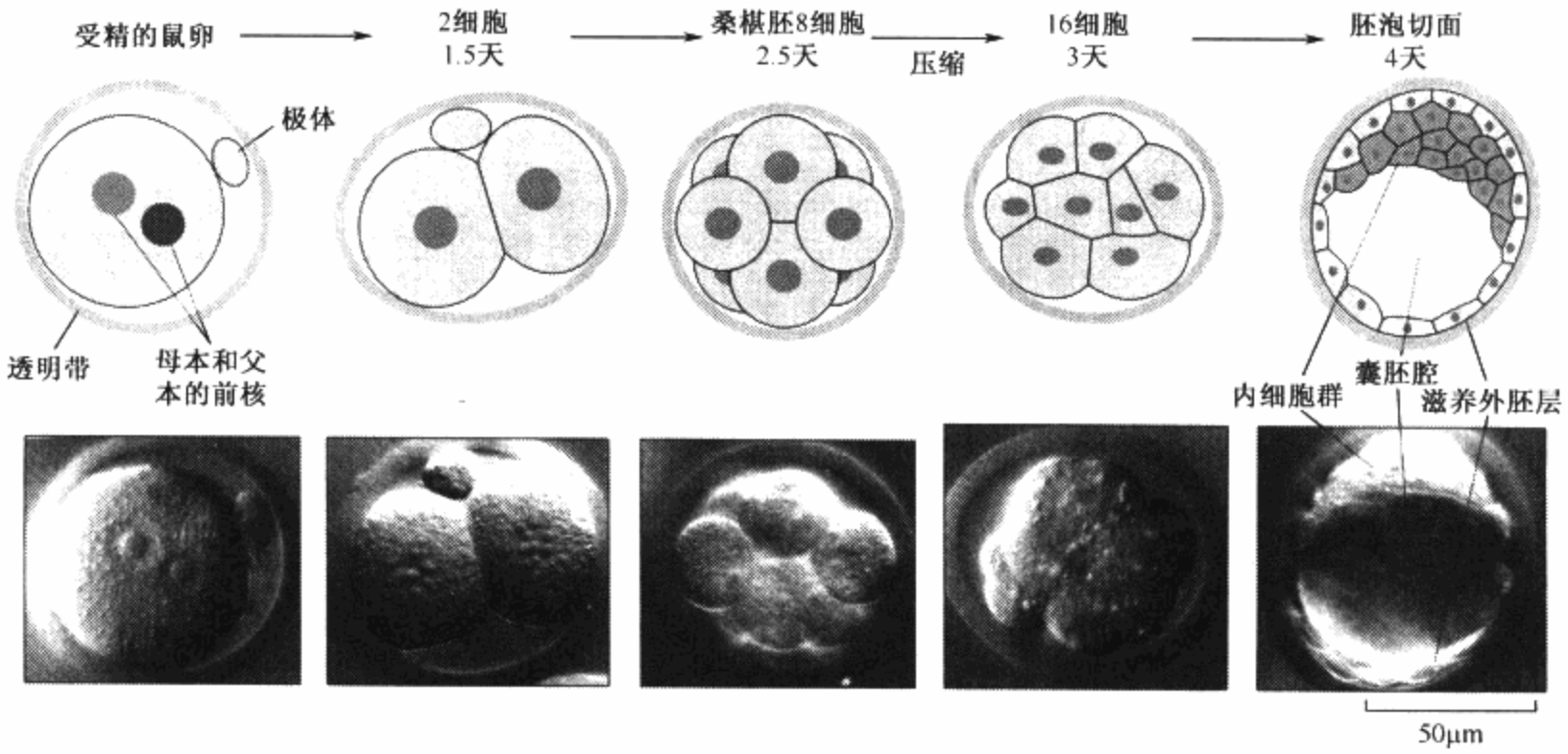


图 21-83　小鼠的早期发育

胚胎会在几天后脱离透明带进入子宫（照片经 Patricia Calarco 许可）

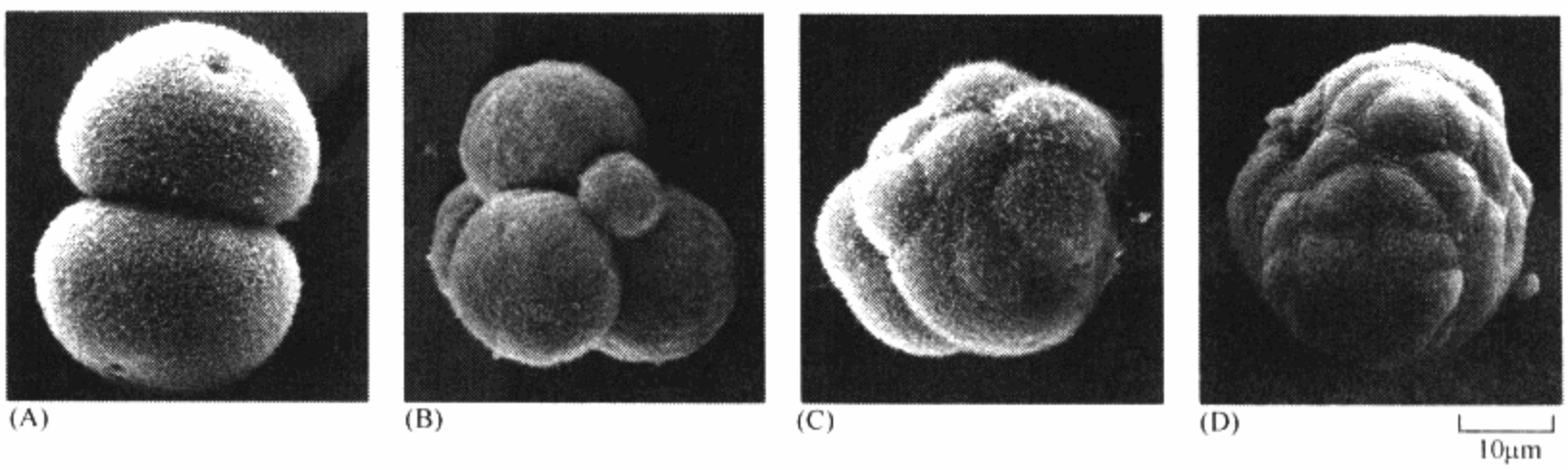


图 21-84　小鼠早期胚胎电镜扫描图

透明带已经被移除。（A）2 细胞期；（B）4 细胞期；（C）8～16 细胞期；（D）囊胚期[（A）～（C）经 Patricia Calarco 许可；（D）来自 P. Calarco 和 C. J. Epctein，Dev. Biol. 32：208～213，1973，© Academic Press]

胚盘。同时，内细胞团开始生长并分化。一部分开始形成胚胎外结构，如卵黄囊，而其余的部分则与其他脊椎动物一样开始通过原肠胚发育、神经胚发育等过程形成胚胎。

早期哺乳动物胚胎是高度可调控的

细胞内的决定物质在早期哺乳动物发育中作用比较小，通过几次细胞分裂产生的囊胚是可以改变的。如果早期胚胎被分为两部分，就会产生完全相同的两部分——由一个细胞形成的两个完全正常的个体。同样，如果用针刺破一个两细胞小鼠胚胎中的某一个细胞，剩下的“半个胚胎”也会正常发育，大多数情况下会产生正常的小鼠。

相反，两个 8 细胞期胚胎也可以融合形成一个大的桑椹胚，并最终发育成为一个大小和结构都正常的小鼠（图 21-85）。这些都是将遗传不同的各种细胞聚集在一起产生的，所以被称为嵌合体（chimera）。我们也可以通过将某一类型早期胚胎的细胞注射到另一类型囊胚的方法来获得嵌合体。被注射的细胞与宿主胚胎的内细胞团结合并发育成为嵌合体。将 8 细胞

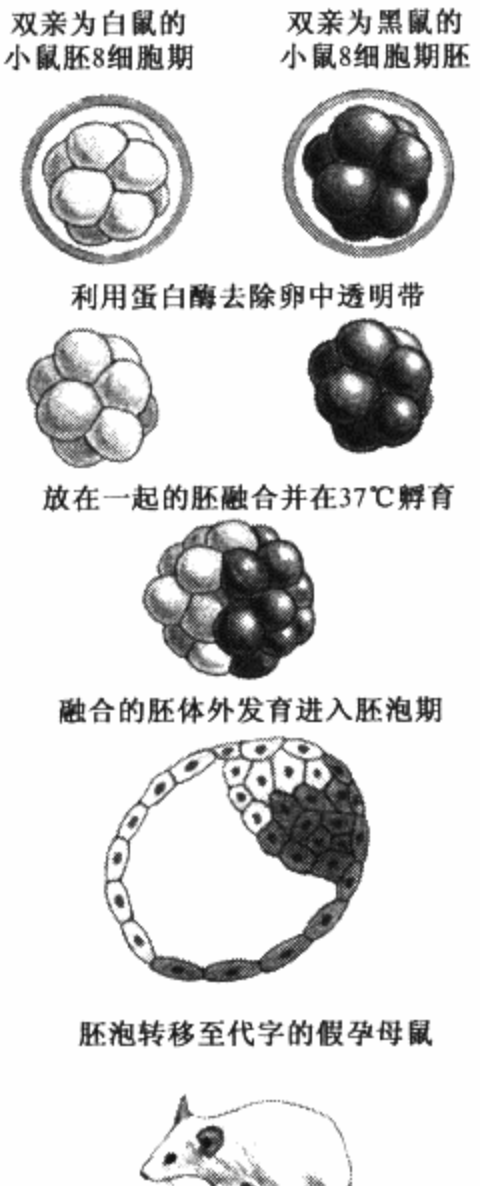


图 21-85　chimeric 小鼠的产生

两个不同的桑椹胚融合

期胚胎中一个细胞或早期囊胚内细胞团的一个细胞注射后，在嵌合体内可以形成各种类型的细胞。无论细胞被注射到什么位置，它都受到周围细胞和发育路线的影响。

这些发现有两个重要意义。首先，在发育早期，发育系统可以自我适应，所以即便环境改变了也能够形成正常的结构。具有这一性质的胚胎我们就说其具有**可调控性**。其次，内细胞团的单个细胞开始是全能的：它们可以形成成体的任何部分，包括生殖干细胞。

从哺乳动物胚胎可以获得全能干细胞

如果一个正常的早期小鼠胚胎被移植到成体的肾或睾丸中，其发育就会被打乱但不会停止发育。最后会成为一个奇异的畸形瘤，是各种分化后组织——表皮、骨、腺上皮等细胞团的无序排列，并与继续分裂并产生更多分化组织的干细胞混杂在一起。

研究畸形瘤的干细胞和相关类型肿瘤发现，它们的行为反映了正常内细胞团细胞的一个典型特征：在一个合适的环境下，它们在保持全能性的同时可以被诱导增殖。具有这一特征的体外培养的细胞被称为**胚胎干细胞**。它们可以通过将正常的内细胞团迅速打散的方法获得。将这些细胞与其正常周围组织分离并在一定的培养条件下培养将会阻止其正常的细胞特征改变程序，它们将会持续分裂下去而不发生分化。许多成体的组织中也含有干细胞，这些干细胞也可以不定向分裂而不进行分化。但是那些成体干细胞却可以分化并最终成为范围很小的几类细胞。

胚胎干细胞所处的状态看上去与正常胚胎内细胞团细胞是一致的。将体外培养的胚胎干细胞注射到正常的胚囊中（图 21-86）。这些被注射的细胞就可以与胚囊的内细胞团结合并形成正常的小鼠。被注射后的干细胞存在于小鼠的所有组织中，并且它们按照所处环境进行分裂，甚至形成有活性的生殖细胞。胚胎干细胞的适应性行为表明细胞的周围环境不仅影响了细胞向不同分化路径的选择，同时可以开始或停止发育过程——由一个细胞发育为一个胚胎并最终形成一个个体。

在实际中，胚胎干细胞的研究有两个重要作用。首先，从医学角度来讲，它提供了各种细胞来修复成体的损伤和缺陷组织。其次，胚胎干细胞也使得遗传修饰的精确控制成为了可能，可以对动物基因组进行任何改变。遗传重组技术也可以将人为构造的 DNA 片段引入到 ES 细胞基因组的特定位点。虽然只有一少部分细胞正确整合了 DNA 片段，但通过筛选机制，我们可以在数以千计的细胞中找到我们需要的细胞。一旦找到这样的细胞，就可以将这样经过遗传修饰的胚胎干细胞注射到小鼠囊胚中产生小鼠。这些小鼠也会产生一些 ES 而来的生殖细胞，并作为亲本产生具有遗传突变的小鼠品系。通过这一方法，我们就可以从培养皿中得到突变小鼠（图 8-70）。

上皮细胞核间充质细胞间相互作用产生了分支管状结构

脊椎动物是比较大的动物，而且它们主要的体积都是连接组织。为了排泄、吸收营养和呼吸，它们还需要大量的各种表皮。这些结构都通过分支形态发生产生了管状结构，在这些区域，上皮细胞进入到胚胎的连接组织（间充质细胞）中形成了复合器官。肺就是一个典型的例子，其起源于前肠基底的内胚层。这个上皮状芽进入到周围的间充质细胞区并形成了分支树——一个向外扩张的分支管道系统（图 21-87）。同样，间充质细胞也会进入内胚层细胞（血管内层细胞）中形成与肺部气体交换的血管。

整个过程依赖于表皮的生长芽和其侵袭的间充质之间信号的相互交换。通过小鼠的遗传学研究可以分析这些信号。其中纤维原细胞生长因子（FGF）家族信号蛋白及其受体起着重要的作用。这一信号通路在发育中有很多作用，但似乎其在上皮细胞与间充质细胞相互作用方面具有更重要的作用。

哺乳动物大约有 20 种不同的 FGF 基因，而在果蝇和线虫中只有一个。在肺中最重要的 FGF 是 FGF10，其在生长的上皮管顶端周围的间充质细胞丛中表达，而其受体在上皮细胞中表达。FGF10 及其受体可以被基因敲除（通过胚胎干细胞中的同源重组）。在基因敲除的突变体小鼠中，分支的形态发生过程将会失败——最初的肺部上皮芽将会形成，但不能够进入间充质细胞建立分支树。相反，将显微水珠浸泡在 FGF10 中并放置在胚胎肺上皮处将会诱导芽的形成并向其生长。有证据表明，上皮细胞在 FGF10 的作用下才能侵袭间充质细胞。

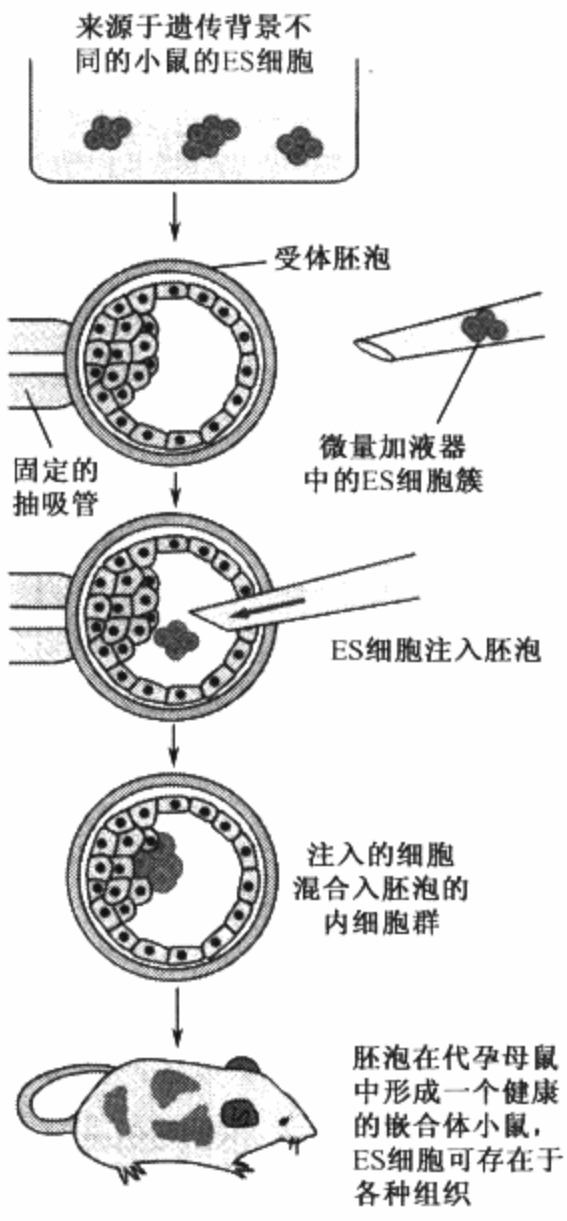


图 21-86　用 ES 细胞建立 chimeric 小鼠

体外培养的 ES 细胞与正常的囊胚共同形成一个健康的嵌合体小鼠，并且在各种组织中都有 ES 细胞，包括生殖细胞

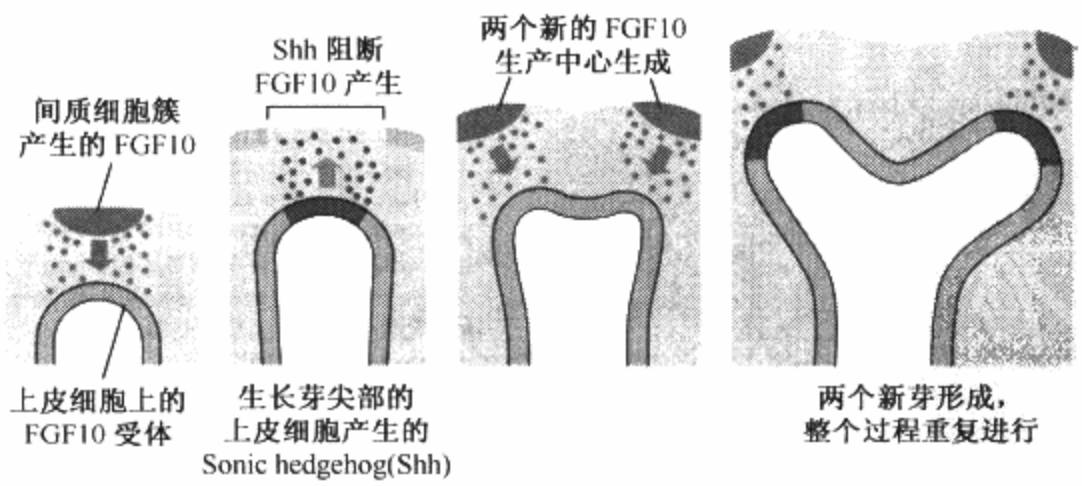


图 21-87　肺部的分支形态发生过程

（A）图中显示了 FGF10 和 Shh 是怎样诱导气管的分支生长的。许多其他分子，如 BMP4 也在这一系统中表达，这表明分支机制只是多种可能性中的一种。（B）图中所示为成人的气管系统，树脂被注射进去，并且不同部位的树脂颜色不同

[（B）来自 R. Warwick 和 P. L. Williams，Gray's Anatomy，35th edn. Edinburgh：Longman，1973]

但是什么使得生长的表皮管在侵袭时重复分支的呢？这似乎与上皮细胞芽向间充质细胞释放的 Sonic Hedgehog 信号相关。在缺少 SHH 的小鼠中，肺上皮可以生长并分化，但只形成一个囊而不是管状的分支树。同时，FGF10 也不是仅仅局限在小部分间充质细胞中，由于每个细胞丛都可以诱导独立的表皮芽生长，所以其表达在靠近表皮的较宽细胞带中。这些发现表明，SHH 信号可以抑制靠近生长芽顶端处间充质细胞的 FGF10 的表达，将 FGF10 分泌细胞丛分为独立的两部分，从而形成两个芽［图 21-87（A）］。

这一系统的许多特征我们还不了解，但我们知道果蝇也用同样的机制来控制气管系统的分支形态发生过程。同样，这一过程也依赖于果蝇 *branchless* 编码的 FGF 蛋白和 *breathless* 编码的 FGF 受体蛋白，这两个蛋白质也控制了小鼠中的类似过程。实际上，果蝇气管的遗传学研究发现了其他的控制机制，果蝇中的基因也让我们找到了其在脊椎动物中的同源物。小鼠的遗传学操作为我们研究这些基因是否在哺乳动物中也有同样作用提供了条件，而且这也将是一个重要的研究领域。

小结

小鼠在研究哺乳动物发育分子遗传学机制中是一个重要的模式生物。小鼠发育与其他脊椎动物发育也很相似，只是要形成羊膜和胚盘等胚胎外结构。强大的实验技术使得建立基因敲除小鼠和对小鼠胚胎内细胞团进行遗传学改变成为可能。这些细胞可以被体外培养并成为胚胎干细胞。在正确的培养条件下，ES 细胞可以迅速增殖而不分化，而在被注射到早期胚胎中后仍然保留成为身体任何部位的能力。

许多发育过程，包括本章中提到的许多过程都在小鼠中有研究。例如，小鼠被用来研究分支形态发生的控制。这一过程控制了肺部和腺体的形成，并受到上皮细胞和间充质细胞间信号交换的调控。通过基因敲除试验可以研究这些信号的作用。

神经的发育

神经细胞，或者说**神经元**，是所有特化的动物细胞类型中最古老的一种。它们的结构和其他的细胞类型都不相似，并且在发育的过程中要面临和解一些其他组织所没有的问题。神经元很特别，拥有巨大的伸展的外形，有一个长的轴突和大量分支的树突，并通过突触和其他细胞相联系（图 21-88）。研究神经发育最核心的问题就是要解释轴突和树突是怎样生长，怎样找到它们正确的靶位点，并怎样选择性地形成突触联系以形成一个功能网络（图 21-89）。

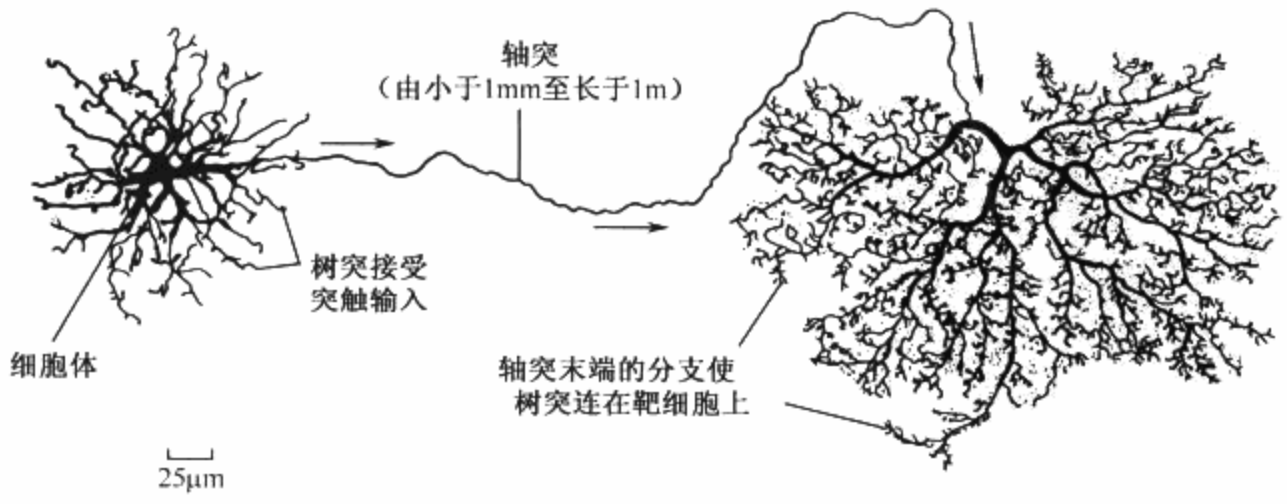


图 21-88　一个典型的脊椎动物的神经元

图中箭头表示信号传递的方向。这里所展示的是一个来自猴视网膜的神经元。人类中最长最大的神经元可长达 1m，直径约 15μm

这个问题解决起来是很困难的：人的大脑拥有超过一百亿的神经元，每个神经元平均又要跟一千个以上的其他神经元形成突触联系，而这一过程是通过极其精密的程序来实现的。和电脑相比，由于大脑进行计算的原理不相同，并且对于各种奇特行为有更大的包容性和多样性，因此其所要求的精密性可能比不上一台电脑；但是和其他任何一种生物器官或结构相比，大脑要复杂得多。

一个典型的神经系统中的各种成分，如神经元、神经胶质细胞、感觉细胞以及肌肉，最初在胚胎中起源于各个不同的部位，其间并没有任何联系。因此，在神经元发育的最初阶段（图 21-90），其发育走向起源于位置信息：产生的部位和时间不同导致不同特征的神经元，而这种差异是基于不同的外界信号和基因调节程序，这一点和我们之前在别的组织中所探讨的是一致的。接下来的发育阶段，出现了一种神经系统特异的形态发生方式：轴突和树突按特定的路径向外伸展，从而在不同部位间建立起一个临时但是有序的连接网络。在第三也是最后一个阶段，通过突触间的电信号的强化作用，这种广泛的联系得到了调整和限定。而这一过程也一直延续到成人阶段。

图 21-89　神经细胞间复杂的联系方式

该图显示的是来自哺乳动物脑的切片——狗的嗅泡，用高尔基法染色。黑色的部分显示的是神经元；细线处为轴突和树突。通过轴突和树突不同部位的神经元得以相互联系（From C. Golgi, *Riv. sper. freniat. Reggio-Emilia* 1: 405～425, 1875; reproduced in M. Jacobson, Developmental Neurobiology, 3rd edh. New York: Plenum, 1992.）

产生的部位和时间不同导致不同特征的神经元

神经元总是和**神经胶质细胞**一起发生，其中后者提供物理支持和相对独立的发育微环境。在所有的动物中，这两类细胞都由外胚层的同一组细胞分裂分化而来。因此，在脊椎动物中，属于中枢神经系统（包括脊髓、脑和视网膜细胞）的那部分神经元和神经胶质细胞主要来源于内卷形成神经管的那部分外胚层细胞，而外周神经系统则起源于神经嵴（图 21-91）。

神经管主要由单层上皮构成（图 21-92）。这些上皮细胞将来发育成神经元和神经胶质细胞。随着这些细胞类型的分化生成，该层上皮也逐渐加厚复杂化，为后来进一步的发育做准备。神经胶质细胞彼此联系形成一个网架，以维持内皮层的粘连性和连续性。新生成的神经元细胞则沿着该网架移动、定位、成熟并形成轴突和树突（图 21-93）。

由神经管的背部和腹部分泌的不同信号蛋白，作为形态发生源，控制着不同背腹水平的细胞表达不同的基因调节蛋白（图 21-94）。在头尾轴上同样存在着这样的差异，反映了同源异型基因的差异表达及其他形态发生源的作用。并且，在中枢神经系统的每个部分神经元还在不断持续发生，这一过程将持续几天、几周甚至几个月。由于细胞可以根据在“时间轴”上的不同从而被赋予不同的特性——通过标记细胞分化前最后一次有丝分裂结束的时间，因此空间和时间的结合将赋予神经元细胞更大的差异性和特殊性（图 21-95）。

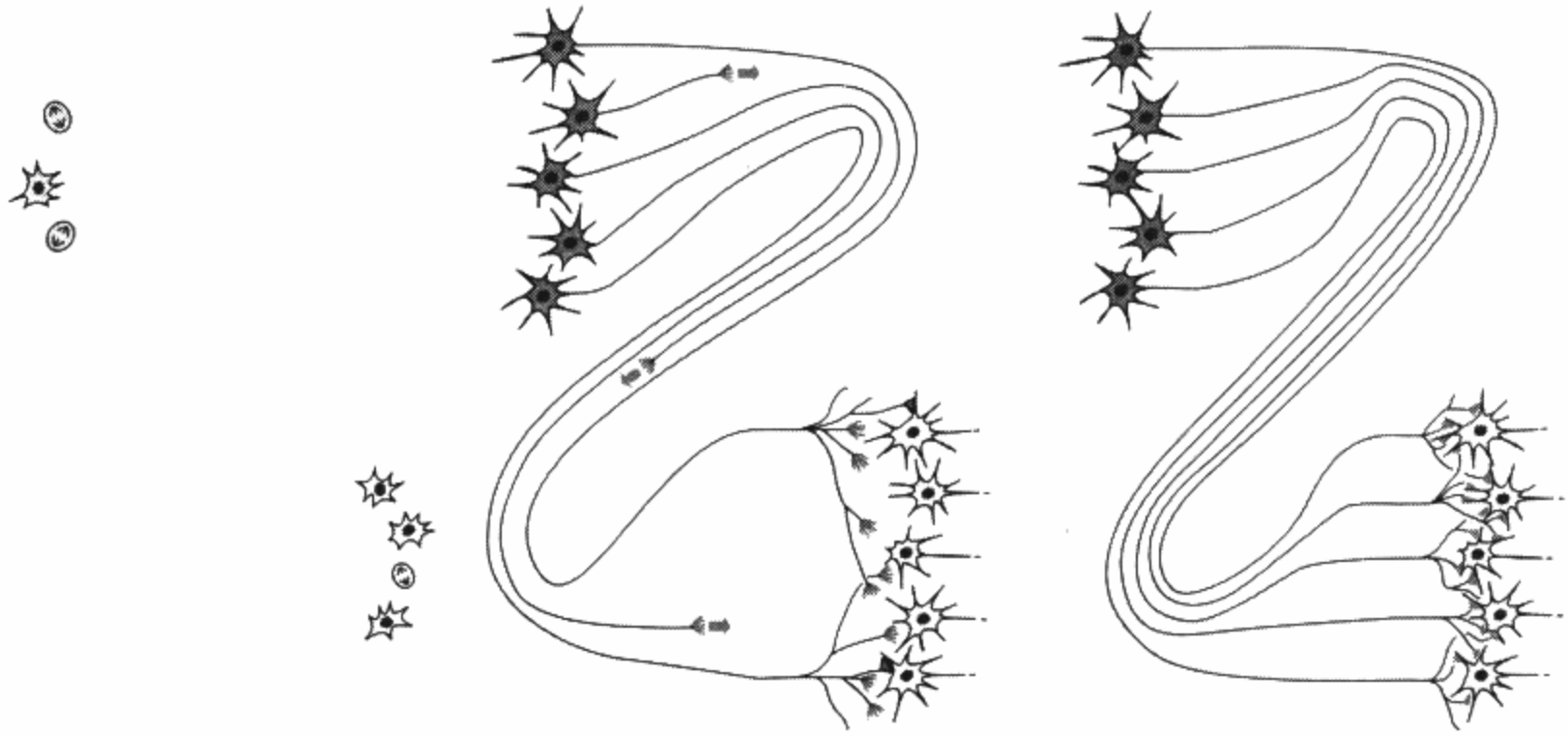


图 21-90　神经元发育的三个阶段

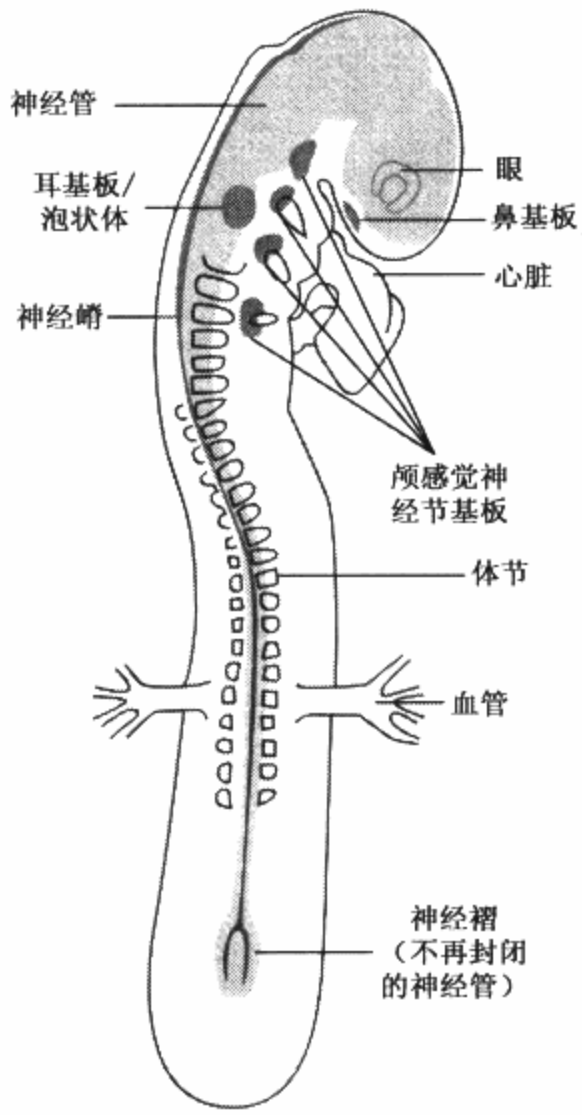


图 21-91　已经发育 2 天的鸡胚的模式图

显示神经系统的起源除了尾部，神经管（浅绿色）已经闭合，位于外胚层的下方（图 21-76）。神经嵴（红色）位于外胚层下方，神经管背侧。此外，位于头部外胚层中的加厚结构又称为基板（深绿色），是某些器官（包括耳、鼻）感觉传递细胞或神经元的起源部位。而眼球视网膜的细胞则起源于神经管

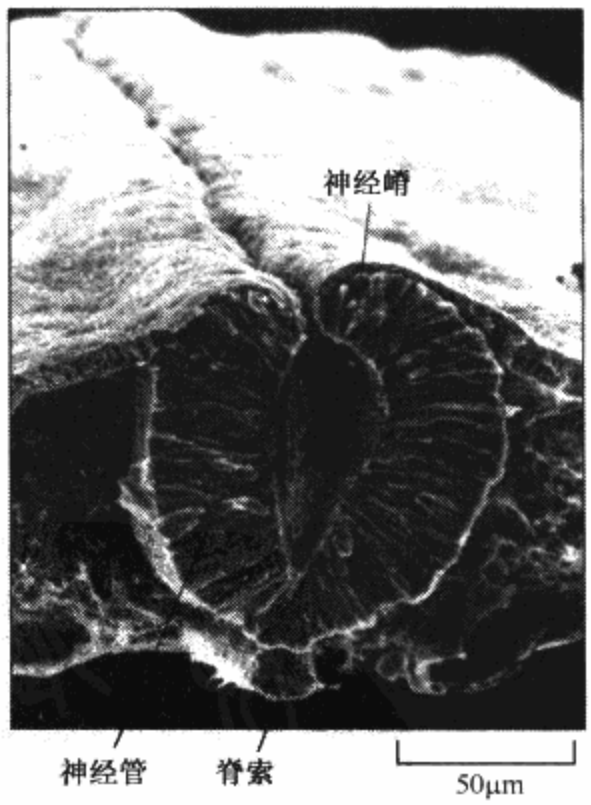


图 21-92　神经管的形成

右图为发育 2 天的鸡胚躯体横切的扫描电镜照片。神经管接近愈合和脱离外胚层；在此阶段它由单层上皮细胞构成（经 J. P. Revel 和 S. Brown 许可）

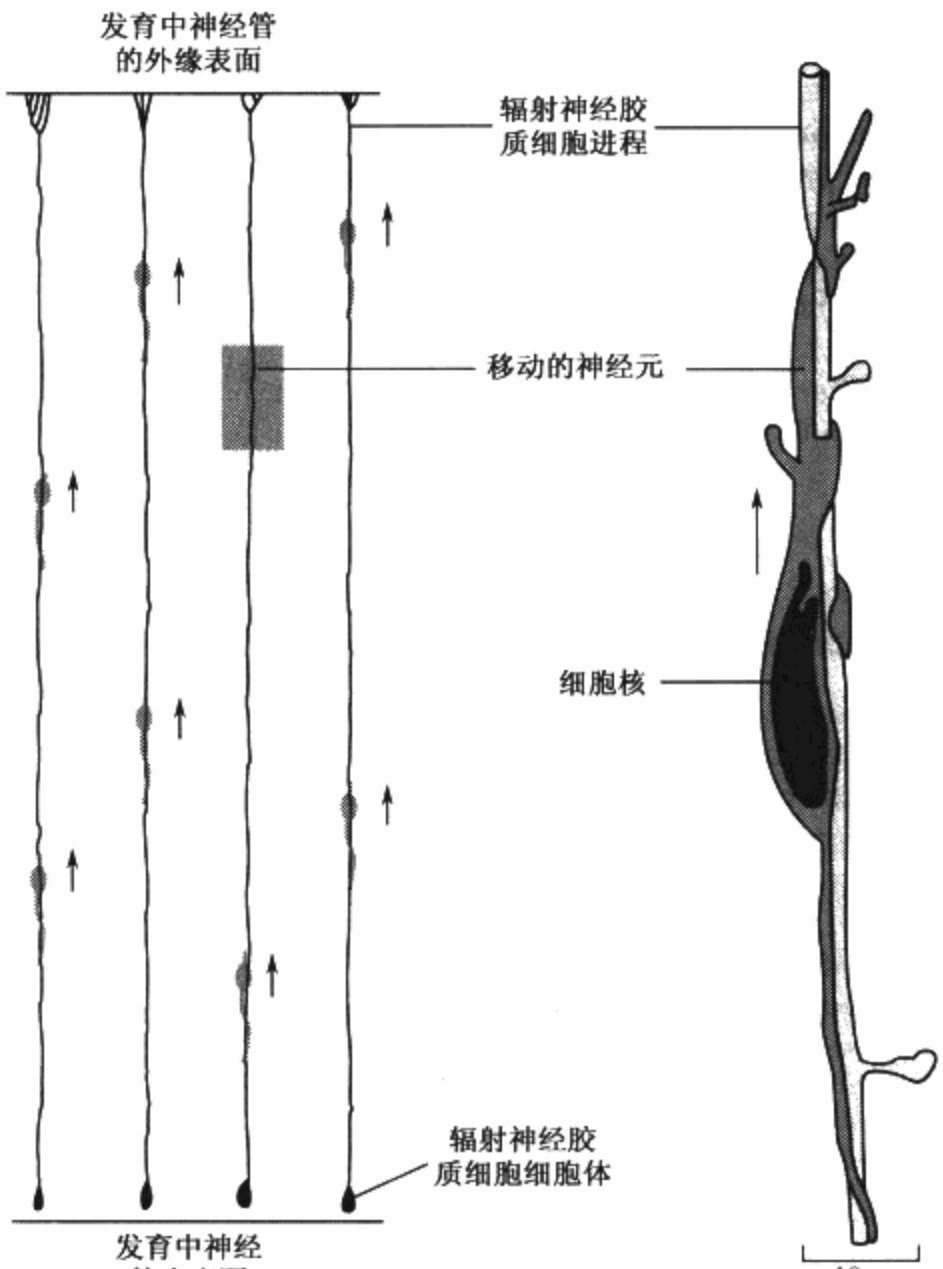


图 21-93　未成熟神经元的移动

在发出轴突和树突之前，新生的神经元常常从出生地向外迁移并定居于其他部位。左图为猴大脑皮层的横切模式图（神经管的一部分）。在神经管的内侧神经元细胞完成最后一次细胞分裂，然后沿着放射状神经胶质细胞构成的骨架向外侧迁移。在灵长类大脑皮层发育中，每个神经元移动的距离达到了 2cm。放射状神经胶质细胞最初为神经管的柱状上皮细胞，随着神经管的加厚而不断伸展（After P. Rakić. *J. Comp. Neurol.* 145：61～84，1972）

神经元产生的时间特异性决定了其所形成的相互间连接的特异性

基因表达的差异赋予神经元差异的表型，并使其与不同的“搭档”形成特异的联系。例如，在脊髓中，腹部的细胞团表达 *Islet/Lim* 基因（其属于同源异型家族，编码基因调节蛋白），控制其发育成运动神经元，并发出轴突与特殊的肌肉相联系——其中不同细胞表达 *Islet/Lim* 基因家族的不同成员，从而和不同的肌肉相联系。如果基因的表达被人为地改变，则神经元所投射的目标肌肉群也将改变。

轴突投射目的地的不同反映了轴突投射的路径也不同。不光是在轴突到达靶位点后通过差异识别从而与不同的细胞相联系，即使在轴突生长的初期，这种差异性便已体现——轴突能识别和选择不同的投射路径。在脊髓背侧的神经元主要接受外周感觉神经的投射从而接受感觉信息。而在中间部分，主要是各种类型的中间神经元，它们在各个神经细胞间建立相互联系。有的向背部投射，而有的向腹部投射；有的向头部投射，而有的向尾部投射；还有的轴突穿越神经管的底板投射到脊髓的另一侧（图 21-96）。将发育中的神经元用荧光染料标记

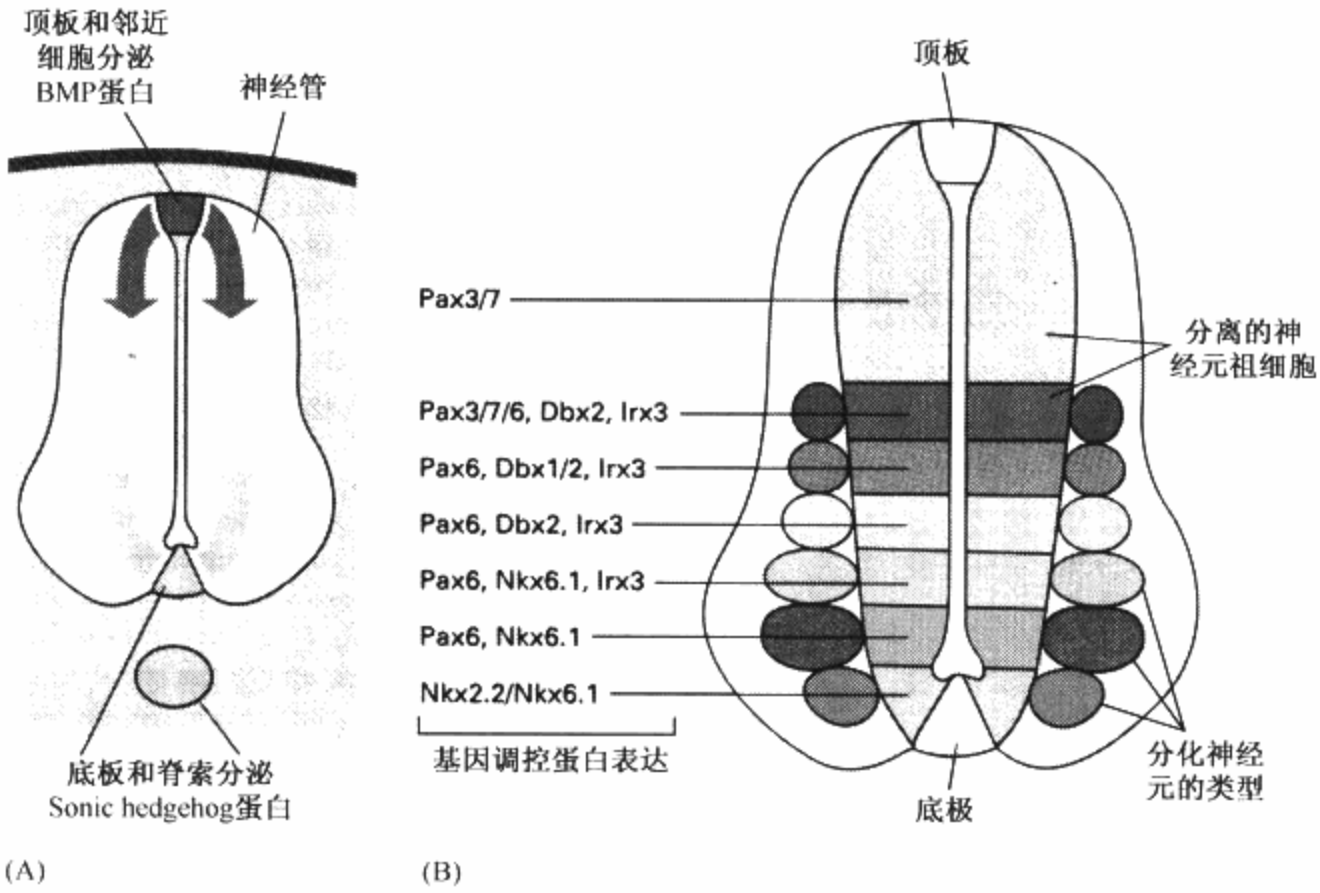


图 21-94　鸡胚脊髓横切模式图

展示了背腹轴上不同区域细胞的差异表达基因调节蛋白 。（A）指导背腹表达图式形成的信号：脊索和底板（神经管的腹中线）分泌的 Sonic hedgehog 蛋白和顶板（背中线）分泌的 BMP 蛋白作为形态发生源调控基因的表达。（B）产生的脊髓腹侧基因表达图式。不同部位的神经祖细胞（位于心室区，靠近神经管腔）和分化的神经元（位于外膜区，相对远离神经管腔）表达不同组合的基因调节蛋白。在该图中展示的基因几乎都是同源异型超家族的成员；分化中的神经元也表达大量该超家族的其他成员基因（包括 Islet/Lim 蛋白）。表达不同基因调节蛋白的神经元将与不同的靶细

并制作缩时电影，你将能清楚地看到轴突的伸展和运动：这很像夜间行车高峰时的汽车灯光，此时，大量的汽车在高速公路网上奔驰，并在不同的路口按各自的计划拐弯或继续前行。

是什么机制在背后控制着如此复杂的运动？在得到答案之前，我们先得了解一下生长中的神经元的结构。

每一个伸展中的轴突和树突顶部都有一个生长锥的结构

一个典型的神经元包括一个长的轴突和多个短的树突，其中，轴突的功能主要在于将信息传递到靶细胞，而树突则负责接受其他神经元通过轴突末梢传递来的信息。在轴突和树突伸展过程中，其顶端可见一多突起、膨大的结构，人们称之为**生长锥**。在轴突生长过程中，生长锥顺着周围组织扩展前进，引导其后轴突和树突的生长（图 21-96）。生长锥包括两方面的结构：一个是动力装置，提供投射运动的动力；另一个是转向装置，控制运动的方向，使投射按着既定的路线进行（图 16-99）。

我们关于生长锥的知识大部分来自于在细胞或组织层面的研究。如果观察神经元生长的全过程，你会发现最开始神经元的各个突起的生长都一样，直到某个生长锥的运动突然加速，大大超过其他所有的突起，同时该突起内开始表达轴突特异的蛋白质，引导其向轴突分化和发育（图 21-97）。在这个时期，细胞内已经开始出现物质的极性运输，不同的物质分别运往轴突或树突。最终，它们将在不同的路径上延伸不同的距离，并最终在突触中形成不同的部分。

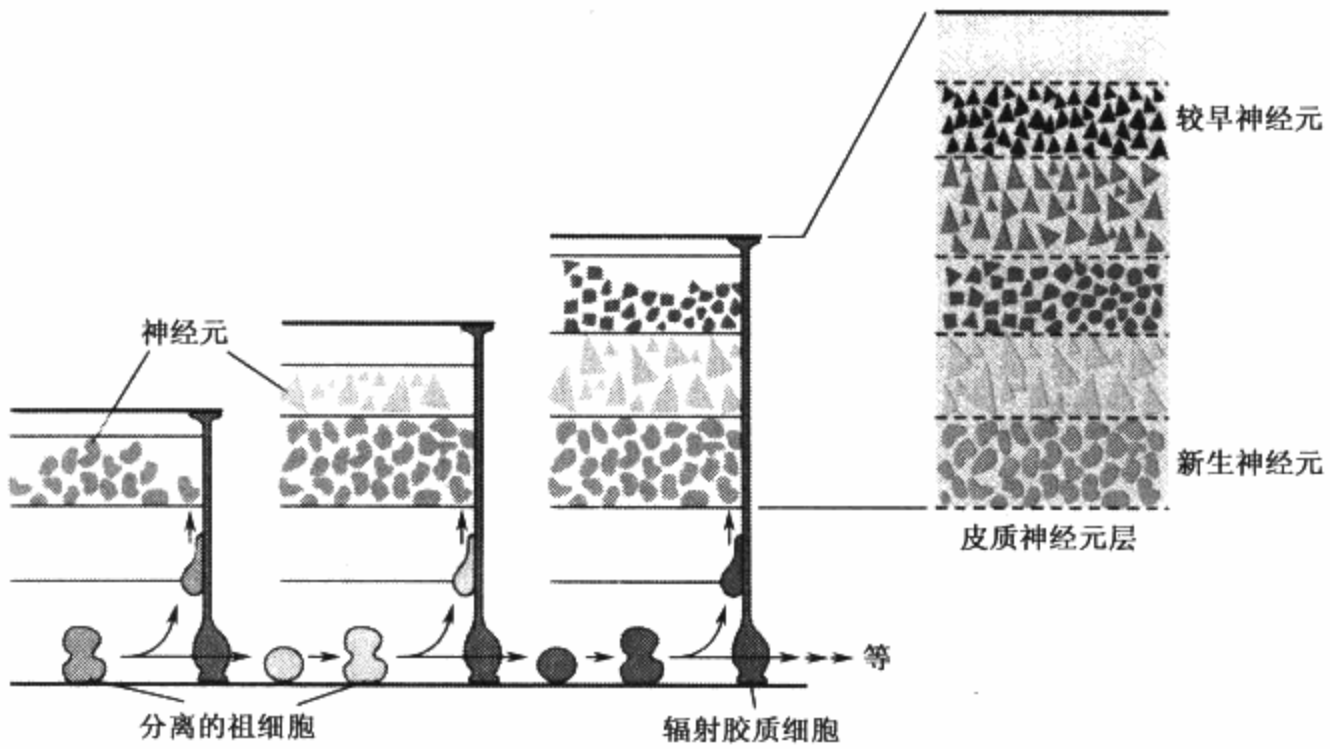


图 21-95　哺乳动物大脑皮层中的神经祖细胞将按一定的程序在不同的时间分裂产生不同类型的神经元

靠近大脑皮层上皮层一侧的神经祖细胞按照干细胞的方式通过不断分裂产生神经元。新产生的神经元沿着放射状神经胶质细胞骨架向神经上皮层对侧迁移，如图 21-93 所示。生成较早的神经元定居于靠近祖细胞一侧，而生成较晚的细胞则向更靠外的部位迁移和定居。于是连续生成的神经元将在大脑皮层中占据不同的位置层，并由于产生时间不同而赋予不同的内在性质

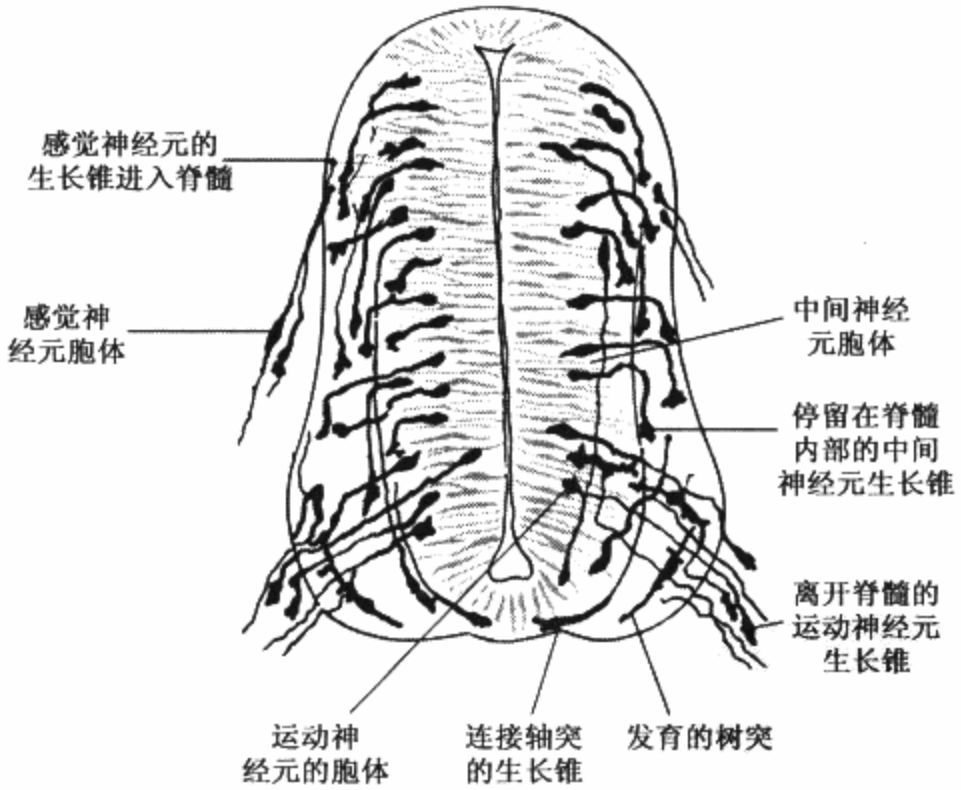


图 21-96　发育 3 天的鸡胚脊髓显示正在生长的轴突

左图显示经过高尔基染色后的脊髓横切。很明显，大部分的神经元还只有一个伸长的突起——未来的轴突。在每个轴突的生长端都可见一个形状不规则的扩展区域——生长锥。运动神经元的生长锥从脊髓发出（最终到达肌肉），感觉神经元的生长锥从外围组织（其胞体所在位置）向脊髓延伸，而中间神经元的生长锥仍留在脊髓内。许多中间神经元发出轴突伸向底板并穿过进入脊髓的另一侧，这些神经元叫做联合神经元。在这一早期阶段，许多胚胎脊髓细胞（位于灰色区域）仍然保持分裂状态而未向神经元或神经胶质细胞分化

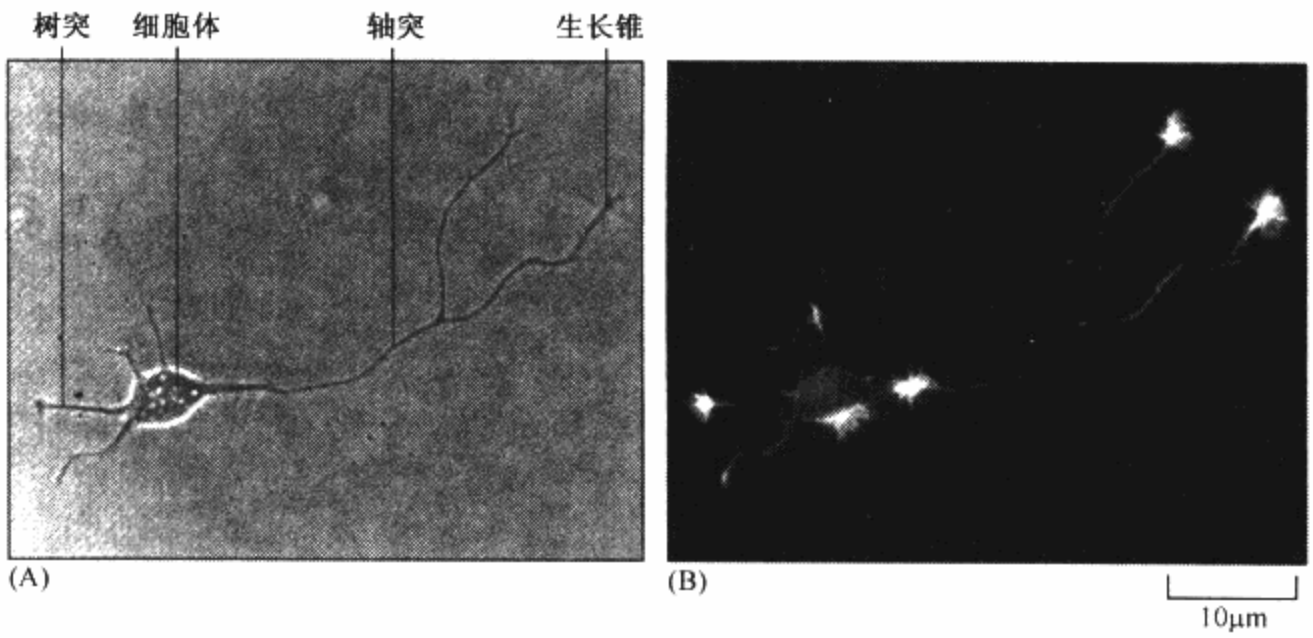


图 21-97　在培养基中轴突和树突的形成过程

从哺乳动物脑中提取出早期神经元并在培养基中培养，使其长出突起。众多突起中将来成为轴突的那根将比其他突起（未来的树突）生长更快并分叉。（A）相差显微镜照片。（B）用与微丝结合的荧光染料——鬼笔环肽染色的结果。在伸展和伪足运动较旺盛的生长锥中肌动蛋白较为丰富（经 Kimberly Goslin 许可）

生长锥，不管是位于轴突或树突，按每天 1mm 的速度向前运动着。运动时生长锥向四周伸出大量丝状伪足或层状伪足向前不断做阿米巴运动。当某一伪足遇到一个不适宜的表面时，其会回缩；当遇到一个更适宜的表面时，其将停留更长时间，并使整个生长锥都向该方向生长。通过这种方式，基膜的表面性质的细微改变将能给予生长锥的生长以精细的调整。同时，其对周围环境中的可溶性趋化因子的变化也很敏感，从而也能引起生长锥的生长方向的调整。这些行为特性和生长锥中细胞骨架的作用有关，相关内容参照第 16 章。生长锥细胞膜上的受体可以和外界信号分子特异结合，通过信号转导影响胞内的调节因子，如单亚基的 GTP 酶 Rho 和 Rac，从而控制微丝的装配和解离，以及其他细胞运动相关结构的改变。

在体内，生长锥使神经突起能沿着精确设定的路线生长

在动物体内，生长锥通过多种机制使其按着既定的路径生长，但在前进的过程中，需要胞外基质或细胞提供附着的表面。通常，生长锥能通过接触引导使其沿着先前某一神经突起已开辟的路径生长，这样一来，在成熟动物体内，多根神经突起常常紧密结合在一起形成神经束或神经纤维管。人们认为这种生长方式是通过同种细胞间黏附分子的作用而介导的——表达同种糖蛋白分子的细胞相互识别并黏附。如第 19 章所讨论，神经系统中两类最重要的细胞黏附分子分别属于免疫球蛋白超家族，如 N-CAM 和钙黏蛋白家族，如 N-钙黏蛋白。这两类家族的成员分子在生长锥、轴突及生长锥生长所附着的细胞表面（如中枢神经系统的神经胶质细胞和外周的肌细胞）都有表达。人类基因组中包括了超过 100 种的钙黏蛋白基因，其中大多数在脑部表达（图 19-28）。不同细胞黏附分子间的不同组合，为神经细胞提供了多样的选择性的识别和导向。生长锥也在胞外基质成分中移动。有些细胞外基质分子，如层粘连蛋白，活化轴突的生长；而有些，如硫酸软骨素，则抑制其生长。

在不同的阶段，生长锥的生长受到不同信号的诱导，基膜的厚度并不是唯一的影响因素。另一重要的机制是由位于轴突生长路线中的某些关键导向细胞所分泌的趋化因子来引导轴突生长。连接神经元（从脊髓的一侧向另一侧生长的神经元）的生长为这一机制提供了一个很好的说明材料。由于身体的两侧需要在反射上协调一致，因此，连接神经元是大多数两侧对

称动物所共有的。该神经元的生长机制在线虫、果蝇及高等脊椎动物中高度保守。

例如，在脊椎动物的脊髓发育过程中，大量神经元的轴突生长锥朝向腹侧底板（由神经管腹中线处一群特化的细胞构成的结构）生长（图 21-96）。生长锥穿过底板后突然拐过一直角，随后沿纵向向脑部运动，并且在运动过程中一直平行于底板而不再穿过它［图 21-98（A）］。这一过程的第一阶段取决于巢蛋白的浓度梯度。该蛋白质由底板处的细胞分泌，对于轴突的生长起吸引的作用。通过测定神经组织提取物对连接神经元的生长的吸引作用，人们已经从鸡胚中得到了纯化的巢蛋白。测序后发现，该蛋白质是线虫的一种已知蛋白质在脊椎动物中的同源物。在线虫的研究中，人们发现了一种叫做 *unc* 的突变型，该突变型因为其运动的不协调而得名。通过对这些突变型进行基因比对和筛查，人们发现了一系列的 *unc* 基因。其中 *unc-6* 即为巢蛋白的同源物，而 *unc-40* 则为巢蛋白的跨膜受体。该受体在脊椎动物中也有同源物，叫做 DCC，其在连接神经元中表达并调节该神经元对巢蛋白浓度梯度的反应。

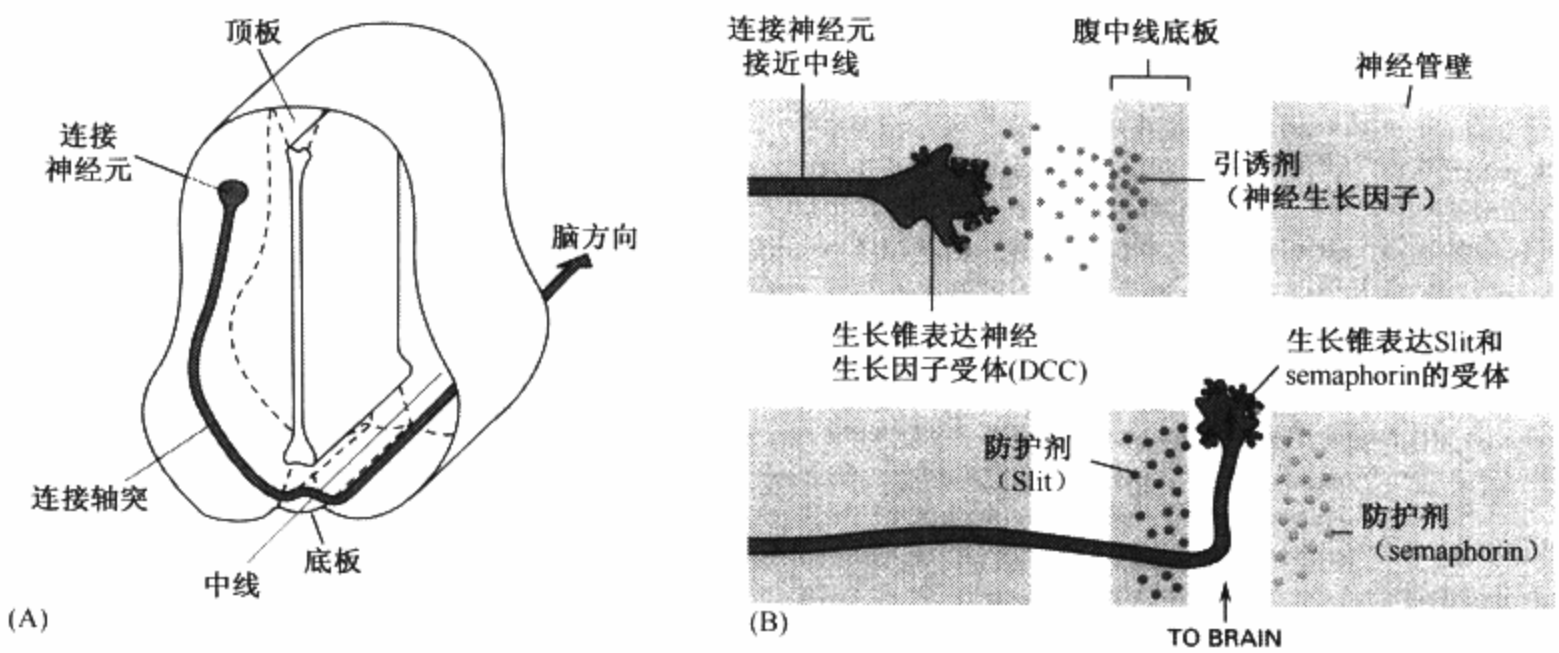


图 21-98　联合神经元的引导

（A）在哺乳动物胚胎的脊髓中，联合神经元所采取的运动路径。（B）引导其运动的信号。首先底板细胞分泌巢蛋白，轴突膜上表达巢蛋白受体 DCC，使生长锥朝向底板运动。在穿过底板后，底板分泌 Slit，而生长锥表达 Slit 受体 Roundabout，感受 Slit 产生抑制效应。Slit 通过结合 Roundabout 不光起抑制效应，同时降低 DCC 对巢蛋白的响应，防止生长锥回头再次穿过底板。另外，生长锥还表达另一种抑制蛋白 semaphorin 的受体，该蛋白质由神经管侧壁分泌。在两套抑制蛋白的作用下，已穿过腹中线的生长锥沿一狭窄的路径朝向大脑方向生长

生长锥上表达的受体不同决定了其运动的路线不同：非连接神经元不表达 DCC，因此不特异性朝向底板运动；而那些表达另一类巢蛋白受体 Unc-5H（线虫中的同源物为 Unc-5）的神经元则被底板所排斥，其发出的轴突朝向顶板方向运动。

生长锥的敏感性在其运动过程中会发生改变

如果连接神经元的生长锥被底板分泌的因子所吸引，那为什么它们不停留在底板处，而要穿过底板到达另一面呢？而且当它们穿过了底板之后，为什么不再次穿越而返回呢？其可能的答案在于另一套分子的作用，其中有一部分在脊椎和无脊椎动物间同样保守。通过对果蝇突变体的研究首先确定了三个关键基因：Slit、Roundabout 和 Commissureless。

像巢蛋白一样，Slit 也是由果蝇脊髓中线处细胞分泌，而该蛋白质的受体 Roundabout 则在连接神经元上表达。但作用于 Roundabout 时，Slit 与巢蛋白的作用相反：Slit 抑制生长锥的生长，阻抑轴突向中线延伸。Commissureless 最初阻断 Roundabout 的表达，从而使生长

锥的生长暂时不受 Slit 信号的调控。因此，连接神经元的生长锥能顺利的朝向中线生长。在穿过中线之后，Commissureless 的作用消失，Roundabout 开始表达，因此，生长锥的生长受到 Slit 的阻遏而不再会发生重新穿越。

在脊椎动物中也有一个相似的作用机制。起先，连接神经元的生长锥朝向中线处生长。在穿过中线之后，其上的受体表达发生改变，由此其敏感性得以改变，对 Slit 的排斥作用敏感，而对巢蛋白的吸引作用不敏感。在这种排斥力的作用下，生长锥不再发生重新穿越中线的现象。同时生长锥似乎还受到另一套排斥信号——semaphorin 的作用，阻止其进入脊髓的背部区域。在两套阻遏信号的共同作用下，生长锥只能沿着平行于底板的狭窄路线运动而不再穿回［图 21-98（B）］。

靶组织分泌神经营养因子控制神经细胞的生长和存活

在最终运动到靶位点后，轴突生长锥需要停止生长并形成突触。此后，发出轴突的神经元才能开始和靶细胞进行信息传递。虽然突触是单方向传递信息，从轴突到树突或肌肉，但在发育过程中，调控是双向的。来自靶组织的信号不光调控具体哪条生长锥将在哪形成突触（如后所讨论），同时也将决定许多神经元的生存。

在脊椎动物中央和外周神经系统的发育过程中，产生了过剩的神经元细胞。虽然看上去是正常和健康的，但在到达靶组织后，仍有超过半数的神经元要发生凋亡。例如，运动神经元在发出轴突，到达靶组织，并与目标肌细胞发生突触联系后的几天内，有半数的运动神经元死亡。相同比例的支配皮肤感觉的感觉神经元也要在到达靶位点后死去。

如此高比例的神经元的死亡是残酷的生存竞争的结果。每种类型的靶细胞都要产生有限量的特异的神经营养因子。而该营养因子是支配该靶细胞的特异神经元的生存所必需的。同种的神经元之间相互竞争神经营养因子，未得到充足营养因子供应的神经元便启动编程性死亡途径而死去。如果靶组织的数量增加，例如，在胚胎的一侧移植额外的肢芽，将有更多的支配肢体的神经元存活；相反，如果肢芽被切去，所有的支配肢芽的神经元都将无法存活。通过这种机制使得运动神经元和感觉神经元的数量总是得以和躯体的大小相匹配，而不管个体的差异如何。这种表面上看似很浪费的发育机制却控制着神经系统几乎每个区域突触的形成和维持。它提供了一种简单而又有效率的调整神经元和被支配组织间恒定的数量关系的方法。

最早发现也是研究得最透彻的神经营养因子是神经生长因子，简写成 NGF——是信号分子神经营养因子家族的成员之一。它为来自神经冠的特定感觉神经元以及交感神经元（位于外周神经系统，参与调节平滑肌的收缩以及外分泌腺的分泌）提供生存信号。NGF 由受支配组织细胞分泌，当其产生过量时，将有过量的感觉和交感神经元存活，如同有过量的靶组织存在一般。相反，在敲除了 NGF 或其受体（TrkA，为跨膜酪氨酸激酶受体）基因的小鼠中，几乎所有的交感神经元和依赖于 NGF 的感觉神经元都消失了。现在已经发现了大量的神经营养因子，其中只有少部分属于神经营养因子家族。它们通过不同的组合方式起作用，从而调控不同种类的神经元细胞的生存和生长。

NGF 还有额外的作用：除了控制神经细胞的生存外，它们还调节轴突和树突的向外生长（图 21-99）。其作用非常精细，可以控制某一突起的生长或消亡：生长锥若和高浓度 NGF 接触，其运动速度迅速增加。相反，若轴突的某一分支缺乏 NGF 而该神经元其他部分不缺乏，整个神经元仍然存活，但该分支消亡。

在发育的神经元凋亡之后，NGF 的作用仍然十分重要。例如，在皮肤受损后，通过 NGF 能使支配皮肤的感觉神经元发生再分支，从而恢复皮肤的正常感觉功能。

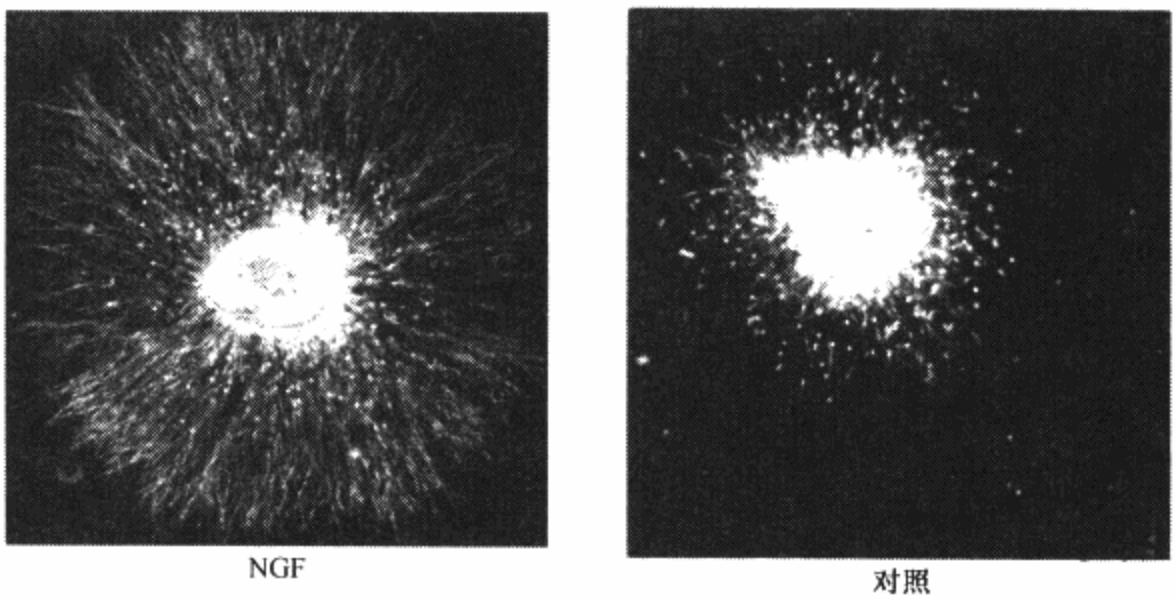


图 21-99　NGF 影响神经突起的生长

用（上方）或未用（下方）NGF 处理 48h 的交感神经节的暗视场显微照片。只有培养液中存在 NGF，交感神经元才长出突起。而每个培养物中都会有施旺细胞（神经胶质细胞）从神经节长出，说明该类细胞不受 NGF 影响。神经元的存活和生长锥的维持代表了 NGF 两个不同方面的作用。对于生长锥的作用是局部的、直接的、快速的，并且和细胞胞体无联系；在 NGF 移走之后的一两分钟之内，生长锥便停止了运动。对于细胞生存的作用则相对迟缓，与 NGF 的内吞和在胞内向胞体的运输有关（经 Naomi Kleitman 许可）

神经元的特异性形成有序的神经元图谱

在很多情况下，类型相似但分布不同的神经元的轴突往往汇聚到一起形成束状向外延伸。到达目的地后，各轴突又分开并终止于各自不同的目标区域。

从眼到大脑的神经投射为这一现象提供了很好的例子。位于视网膜中接受并传递视觉信息的神经元叫做视网膜神经节细胞。在视网膜中有超过一百万个该类细胞，每个细胞都对应于大脑视区的一个特定位置。这些神经元的轴突汇聚到一起形成视神经，穿过眼球沿视柄进入大脑。在除了哺乳类的大多数脊椎动物中，它们主要终止于视顶盖——中脑的一个大型区域。视网膜神经元轴突根据其胞体在视网膜中的排列方式，按照特定的对应投射与视顶盖中神经元相联系：视网膜中相邻的神经节细胞与视顶盖中相邻的神经元相连接和对应。这种有规律的投射在视顶盖形成一视觉空间图谱（图 21-100）。

这类规则谱在大脑的其他区域也有发现。例如，在听觉系统中，内耳神经元按照音调高低顺序排列和向大脑投射，使得在大脑处理听觉的区域，神经元也根据音调高低而顺序排列成音调谱，如同钢琴琴键一般。在体表感觉系统中，神经元形成触觉谱投射到大脑皮层并产生“雏形人”——一个小的、扭曲的、二维的体表投影（图 21-101）。

视顶盖中的视觉空间谱是所有这类图谱中最有代表性的。那么，这种图谱是怎么产生的呢？概括地讲，起始位置不同使得生长锥最终投射到了不同的目标位点，这如同在一个多车道但禁止更换车道的高速公路上行车一般。20 世纪 40 年代，在视觉系统中做的一个著名实验验证了这种可能性。在青蛙中，视神经被切除后会发生再生。视神经节细胞的轴突重新投射到视顶盖处，使青蛙的视觉恢复。如果在切除视神经后，同时将眼球旋转 180°（视网膜细胞被人为背腹、左右倒置），视觉仍然可恢复，但青蛙行为表现十分笨拙，就好像看到的景象是上下、左右倒置的一般。这是因为错位后的视网膜细胞仍然按照其最初的位置而不是其实际位置来指导其投射过程。似乎细胞都含有位置信息——位置特异的生化特性和其起始的位

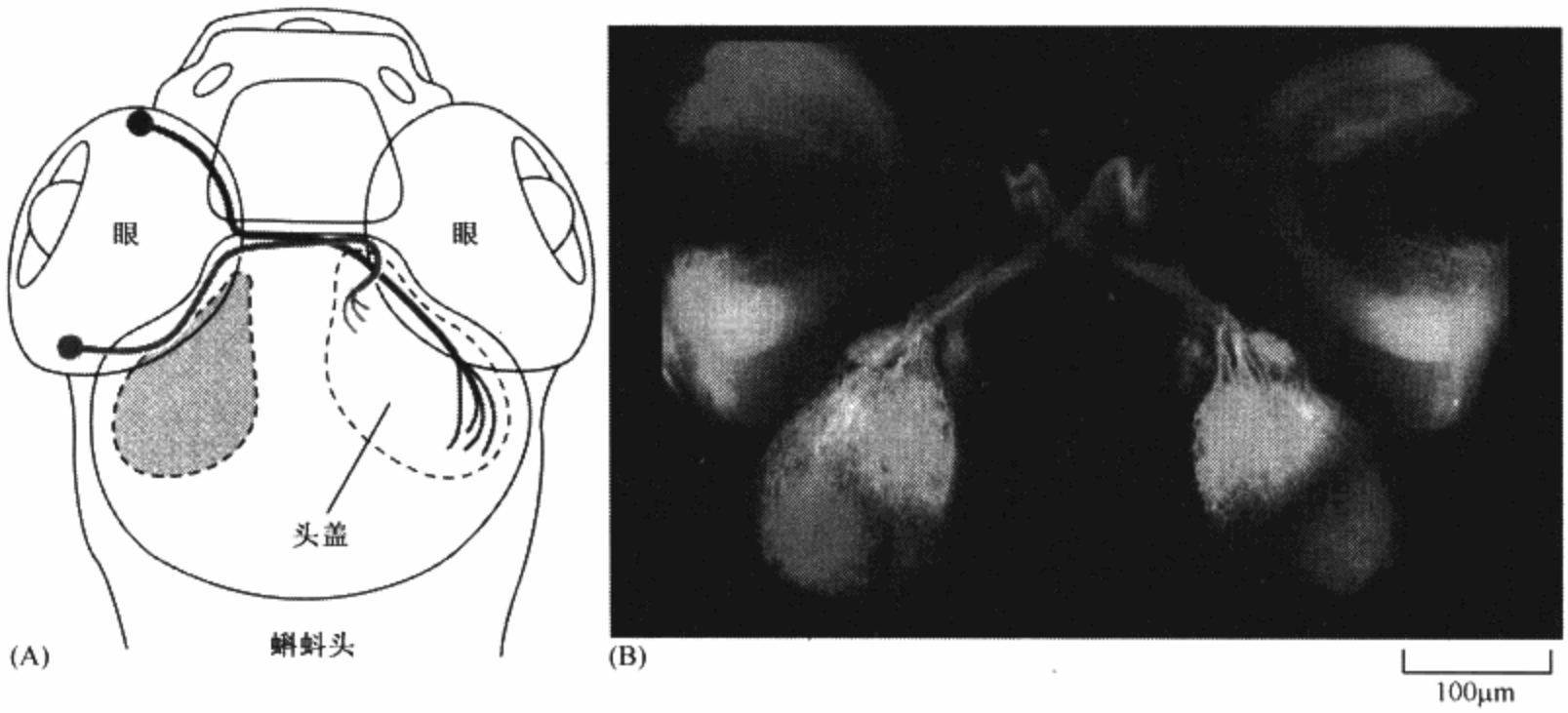


图 21-100　斑马鱼从眼到大脑的神经投射图谱

（A）头部顶面观。（B）荧光显微照片。在每只眼中都注入荧光示踪染料——眼前部注入红色染料，后部注入绿色染料。示踪染料在视网膜处被神经元吸收，并沿轴突运动到视顶盖，可显示投射的路线和在脑中形成的投射谱（经 Chi-Bin Chien 许可，D. H. Sanes，T. A. Reh 和 W. A. Harris，Development of the Nervous System. San Diego. CA：Academic Press，2000）

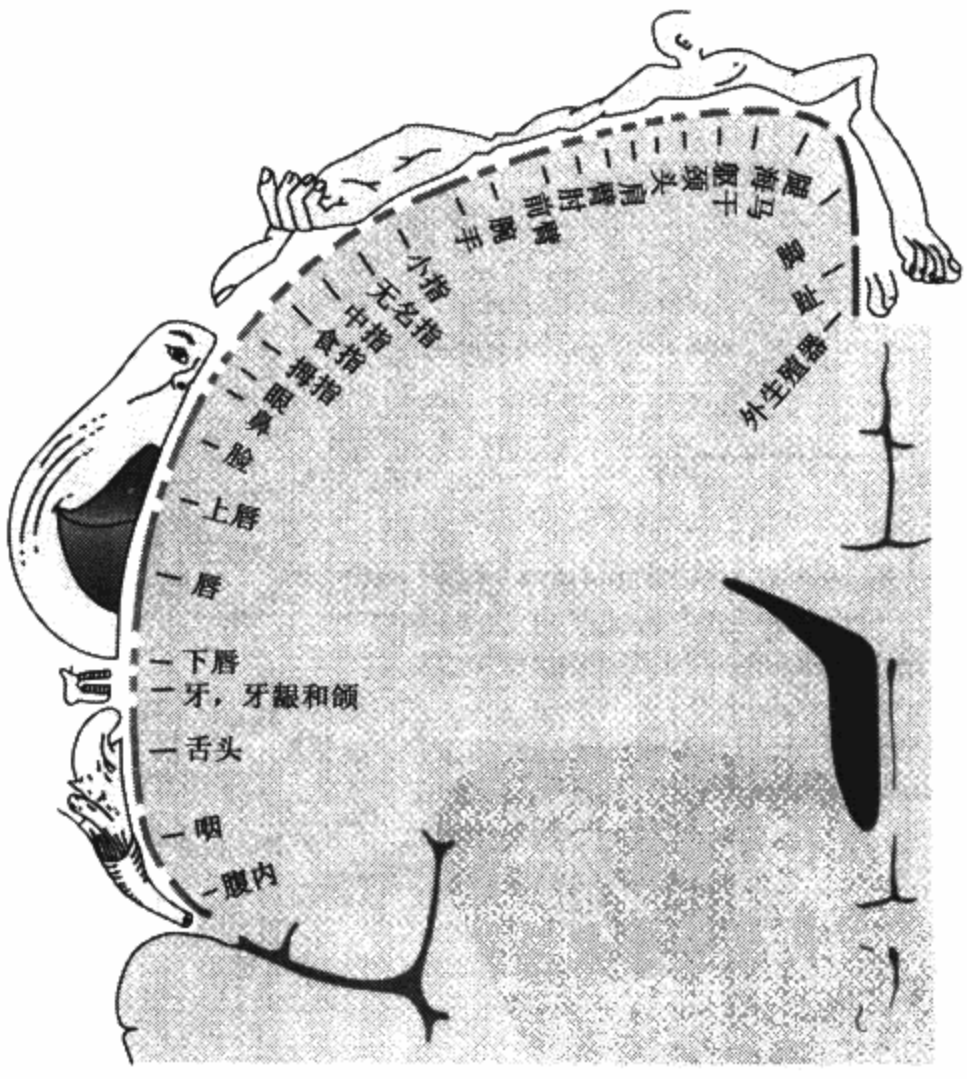


图 21-101　身体表面在人脑中的投射谱

身体表面在人大脑皮层体表感觉区的投射，反映出体表临近部位的感觉信息总是投射到大脑的临近部位。这表明大脑的投影很大程度上与身体表面拓扑分布是一致的，尽管会由于神经支配的密度不同而引起感觉精细程度与投影面积成正比。例如，雏形人（脑中的“小人”）有厚的嘴唇，因为唇部的感觉信息特别多和重要。在进行大脑手术时，对于有意识的患者进行皮层定点刺激然后记录他们感受的方法可以确定投射图谱

置相对应。因此，位于视网膜不同位置的细胞间的差异是内源性的，就如同投射到不同肌细胞的运动神经元的差异也是内源性的一样。

这种神经元之间的不等价性被称为神经元特异性。正是这种内源性的特点引导视网膜神经元轴突投射到视顶盖的合适位点。由于视顶盖细胞也同样含有位置标签，因此，视网膜神经元轴突到达后能够分辨不同的靶位点。因此，神经元图谱的形成取决于两个位置标签系统间的一一对应，一个位于视网膜中，另一个位于视顶盖中。

视网膜不同区域发出的轴突对于视顶盖中抑制分子浓度梯度的响应不同

视网膜鼻侧的轴突投射到视顶盖的后侧，颞侧的轴突投射到前侧，而中间的轴突投射到中间区域。如果让鼻侧和颞侧的轴突生长于培养有视顶盖前侧或后侧脑膜的培养基上，它们的生长将表现出选择性（图 21-102）。与体内情况相似，颞侧轴突受视顶盖前侧膜的吸引，而鼻侧轴突则要么喜好视顶盖后侧膜，要么无明显倾向性（取决于不同的动物）。视顶盖前侧与后侧脑膜的关键的不同点在于后侧膜分泌一种抑制因子，该因子对于颞侧视网膜神经元轴突的生长有抑制作用，而鼻侧神经元轴突则对其不敏感：颞侧神经元轴突的生长锥一旦接触到后侧视顶盖膜，其上的伪足将回缩和转向。

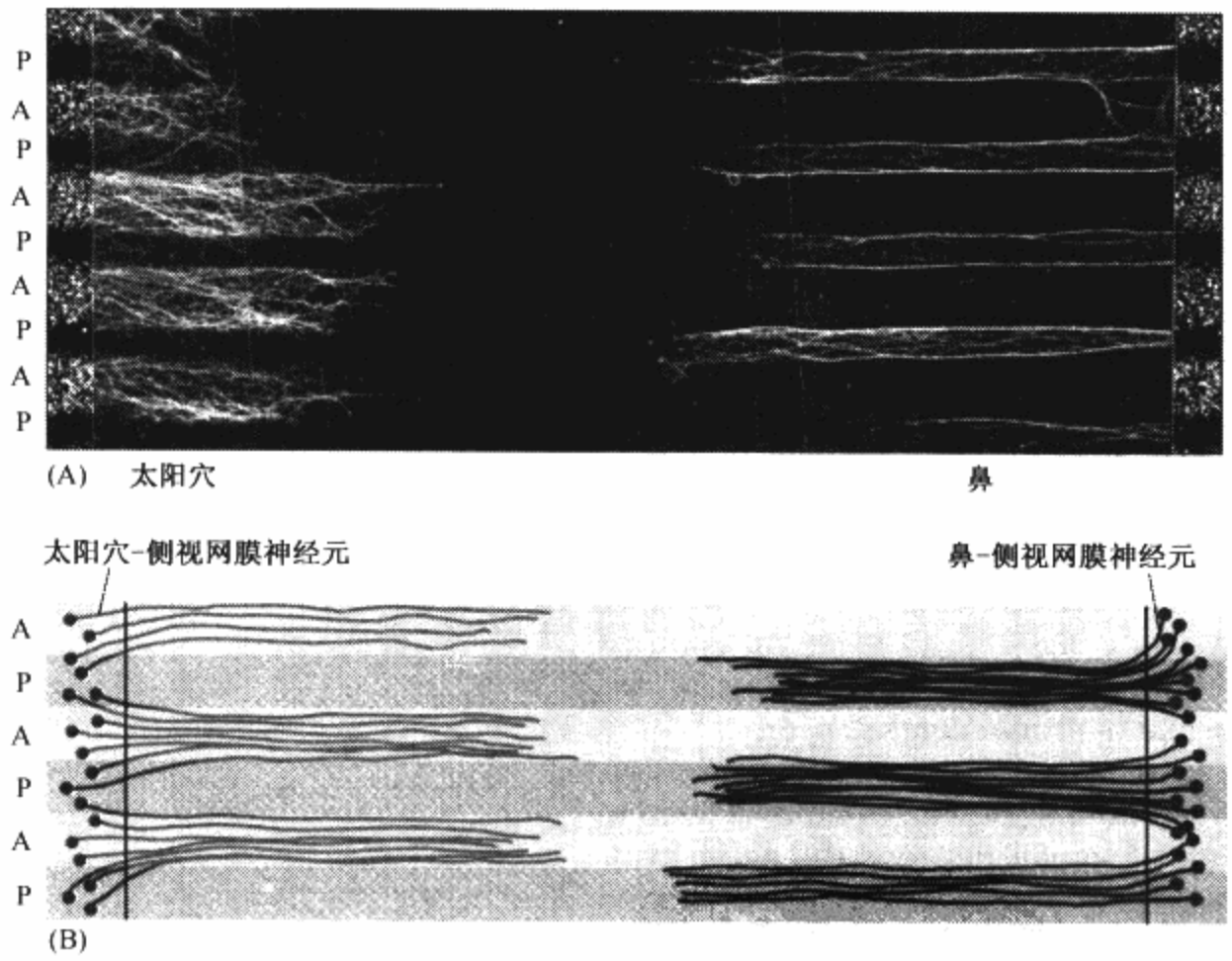


图 21-102 视网膜轴突向视顶盖皮层选择性的投射

（A）实验观察的照片。（B）实验结果示意图。培养基底侧覆盖有交替排列的分别来自视顶盖前区（A）和后区（P）的脑膜。在照片两侧，来自前区的脑膜用荧光染料标记以显示垂直排列情况。来自视网膜颞侧的神经元轴突（从左侧开始生长）顺着前区膜生长而避开后区膜，来自鼻侧的轴突（从右侧开始生长）则相反。因此前区膜与后区膜、鼻侧与颞侧都是不同的，这种不同正是轴突选择性投射的基础。这些实验都是基于鸡胚细胞所做的（来自 Y. von Boxberg，S. Deiss，and U. Schwarz. *Neuron* 10：345～357，1993，© Elsevier）

对于该现象，体外测验已经检出了几个相关分子。后侧膜的抑制因子似乎部分或整个由 ephrin A 蛋白构成。该蛋白质是 GPI-相关蛋白家族的成员，作为配基通过激活属于 Eph 家族的酪氨酸激酶受体来发挥作用。在小鼠中，有两种不同的 ephrin 蛋白表达，共同形成视顶盖的前后浓度梯度。前侧细胞不表达 ephrin，中间部分表达 ephrin A2，后侧细胞表达 ephrin

A2 和 ephrin A5。因此在视顶盖中形成了 ephrin 的表达梯度谱。同时，进入该区域的轴突同样按梯度方式表达 Eph 受体：颞侧轴突 Eph 表达量高，使其对 ephrin A 的抑制作用敏感，而鼻侧轴突受体的表达量低。

这一信号-受体系统已经足够用来产生一有序的图谱。如果我们做进一步的假设，一个已得到体内实验支持的假设：视网膜轴突间也有相互作用，竞争视顶盖的相关区域。这样，由于颞侧轴突局限于视顶盖前侧区，将排斥到达该区域的鼻侧轴突，于是来自鼻侧的轴突将只限定于后侧区。这两个极端间的相互平衡形成了一个相对缓和的从视网膜鼻颞侧轴到视顶盖前后轴的投射格局。在小鼠中进行的 ephrin 基因敲除的研究结果与该假设是一致的。该项研究还提供了格外的有关视网膜-视顶盖投射模式的线索。此外，视网膜的背腹轴也有一定的投射模式，该模式有着与上述讨论的模式相似的作用机制，甚至某些作用蛋白质也是相同的。

突触联系模式的重塑取决于突触活动强度

在一般的动物中，视网膜-视顶盖投射图谱最初是模糊而不精确的：前面所讨论的参与识别和配对的标签分子系统已经足够用于产生一个宽泛的图谱，但是要精确规定各个联系的细节，光有该系统的作用是不够的。在蛙和鱼中的研究表明，每一个轴突最初在视顶盖中广泛分支，形成丰富的突触联系，覆盖了大量的视顶盖区域，并和其他轴突支配区域相互重叠。随后突触联系发生选择性退化，部分轴突分支消退，使轴突所支配区域逐渐缩小。这一过程同时伴随新的突起产生，最终使每一轴突对应一个范围小但突触联系多而密集的支配区。

在这一重塑过程中，有两个竞争法则共同起作用，决定了最终的空间联系模式：①来自视网膜不同区域的轴突，由于其胞体激活时间不同，在与视顶盖形成突触联系时，相互间为竞争关系；②来自视网膜临近区域的轴突，则由于胞体激活时间相同，将相互协同和加强，在视顶盖上形成共同的支配区域（图 21-103）。这两条法则形成的机制在于通过突触的电信号

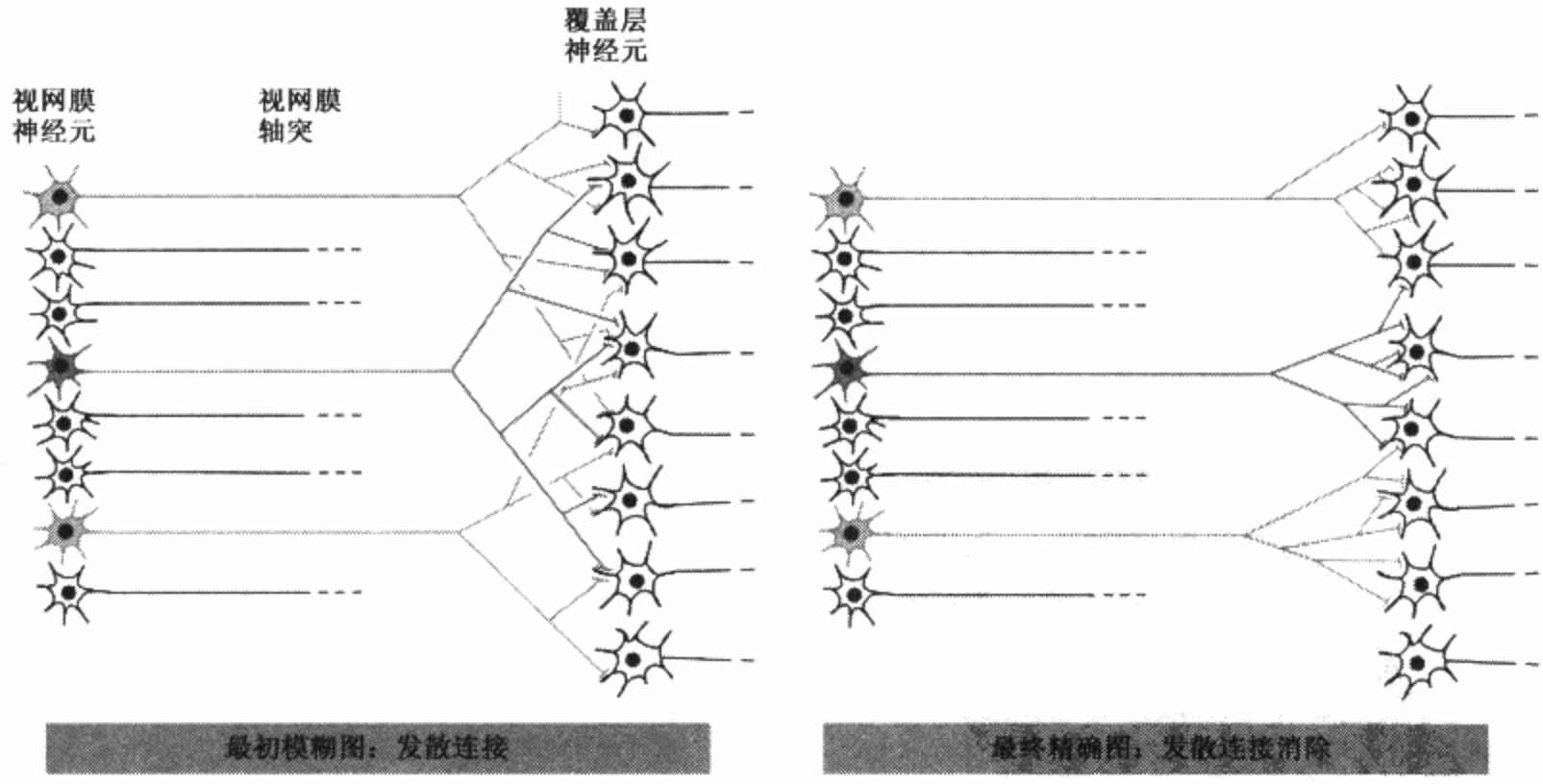


图 21-103　通过突触消退使视网膜-视顶盖投射谱精细化

由于最初轴突广泛分支，神经支配区域相互重叠，导致最初的投射谱很模糊。随后通过突触消退的过程投射谱得以精细化。当视网膜不同区域的轴突投射到同一视顶盖神经元胞体上时，不同轴突间存在竞争并发生部分突触联系的消退。但来自邻近区域的轴突相互协同加强，维持对同一靶细胞的共同支配。因此每个轴突只支配视顶盖的一小部分区域，并与来自视网膜邻近区域的轴突支配域相靠近甚至有小部分交叉

强度的影响。如果用电压门控钠通道的阻断剂阻断动作电位的发生，将使突触重塑过程受阻，投射图谱仍将保持初始的不精确状态。

在脊椎动物神经系统发育的各个部分都存在这种与突触电活动强度相关的突触消退现象。一开始有大量突触形成并支配广泛的靶区域，随后突触联系网络精细化并发生重塑，而这一重塑过程是基于突触电活动强弱的竞争性过程。这种方式的突触消退与通过细胞死亡而使过量神经元消失是不同的，该过程发生的时间也在细胞死亡阶段之后。

关于突触重塑的细胞机制的大量知识来源于脊椎动物胚胎期骨骼肌细胞的神经支配实验。在神经轴突末梢和肌细胞之间进行的交互信号传递调控了最初突触的形成。在收缩发生的位点，肌细胞膜上的乙酰胆碱受体数量增加并聚集，同时轴突末梢上参与分泌神经递质的细胞结构也增多（见第 11 章）。起先每一个肌细胞与数个轴突形成突触联系；在经历了大约数周的发育之后，最终只有一个轴突支配一个肌细胞。突触的消退仍然与突触联系的强度有关：如果人为加入阻断乙酰胆碱受体的毒素来阻断突触传递过程，即使在正常的突触消退阶段之后，仍然有大量的神经支配得以保留下来。

神经-骨骼肌系统及视网膜-视顶盖系统方面的实验表明，不光是电活动强度决定了突触的保留，同时电活动在时间上的协同也起了很重要的作用。某一特定突触的加强或消退取决于该突触前末梢与作用于同一突触后神经元的其他突触前末梢的电活动是否同步（同时也要与突触后神经元的活动同步）。

这些发现让我们对于视网膜-视顶盖投射系统突触消退的竞争机制有了一个简单的理解（图 21-104）。来自视网膜不同部分的轴突在不同的时间发生兴奋并相互间发生竞争。每当支配同一神经元的不同轴突之一发生兴奋，相应的其他轴突就会发生消退，直到只剩单一的轴突支配位置。另一方面，来自视网膜临近细胞的轴突总是同时被兴奋，因此它们之间不是竞争而是协同加强对于同一神经元的轴突投射，通过这一机制可以形成一个十分精确有序的投射图谱：来自视网膜临近细胞的轴突投射到视顶盖临近的神经元上。

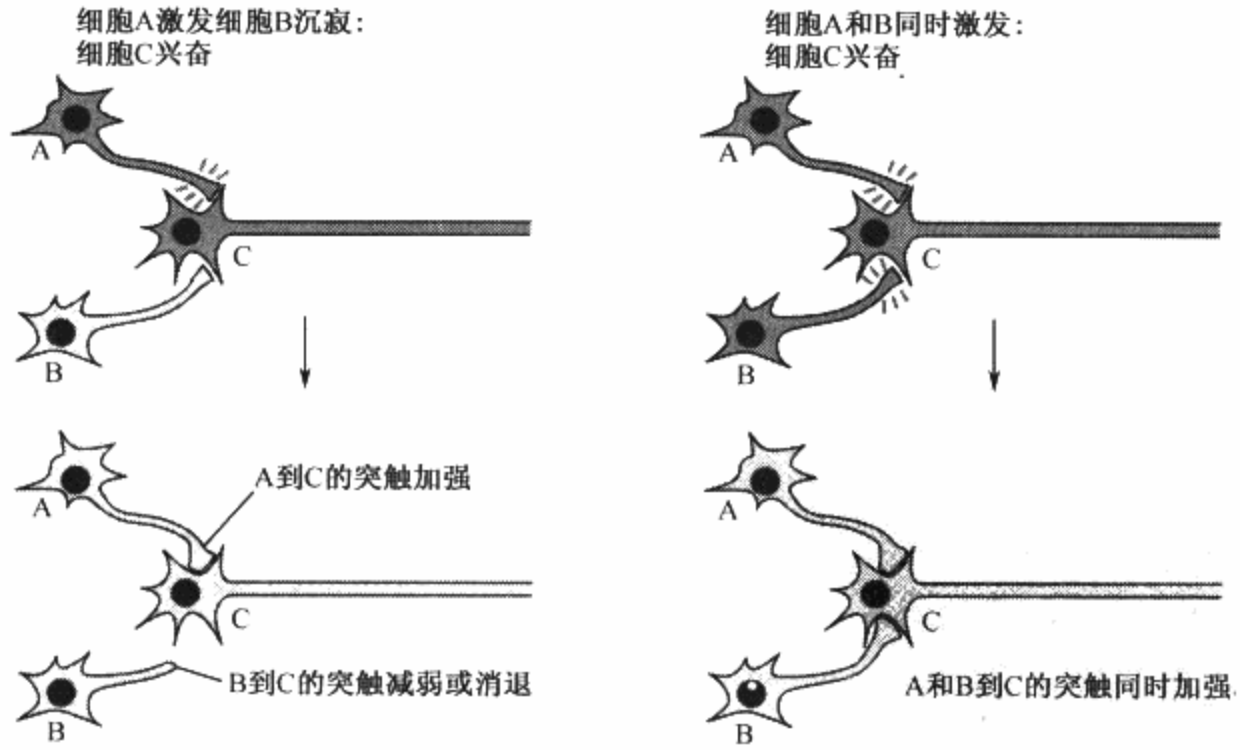


图 21-104　基于电信号强弱的突触修饰

来自几个不同系统的实验均表明突触联系按照图中所示方式得以加强或削弱。这一原则是说被激活的神经元胞体能使活化的突触前部分得到加强而静息的突触前部分得以削弱。因此，“同时兴奋的神经元总是集中行动”。当突触总是被弱化而得不到强化信号时将最终消失

后天经验参与重塑大脑的突触联系模式

前面我们所讨论的现象可以归为一句话："同时兴奋的神经元总是集中行动"。相似的规律有助于我们理解大脑通过经验重塑突触联系的过程。

在哺乳动物的大脑中，两眼接受刺激后通过轴突传递到大脑与视觉有关的区域的特殊细胞层中。在这里，它们形成两套相互重叠的外界视场的投射图，一个来自左眼，而另一个来自右眼。尽管有证据表明，左右眼信息的输入在突触联系之前是分开的，但在胚胎发育早期，携带来自左右眼的信息的轴突在皮质靶细胞上形成突触联系。但是在视力出现之前，双眼便存在早期信号活动的阶段，在每个视网膜中自发和独立地形成一些传入冲动，最终在大脑皮层中形成分别来自左右眼的交互排列的冲动区域（图 21-105）。第一段提到的兴奋规则可以提供一个较为简单的理解：左眼视网膜邻近区域的细胞总是同时兴奋，发出的轴突总是集中在一起形成束，同理也适用于右眼，但来自左右眼的轴突间很少集中，而是存在竞争。事实上，如果使用药物将左右眼的电活动阻断，则不同来源的输入冲动将无法正确分离。

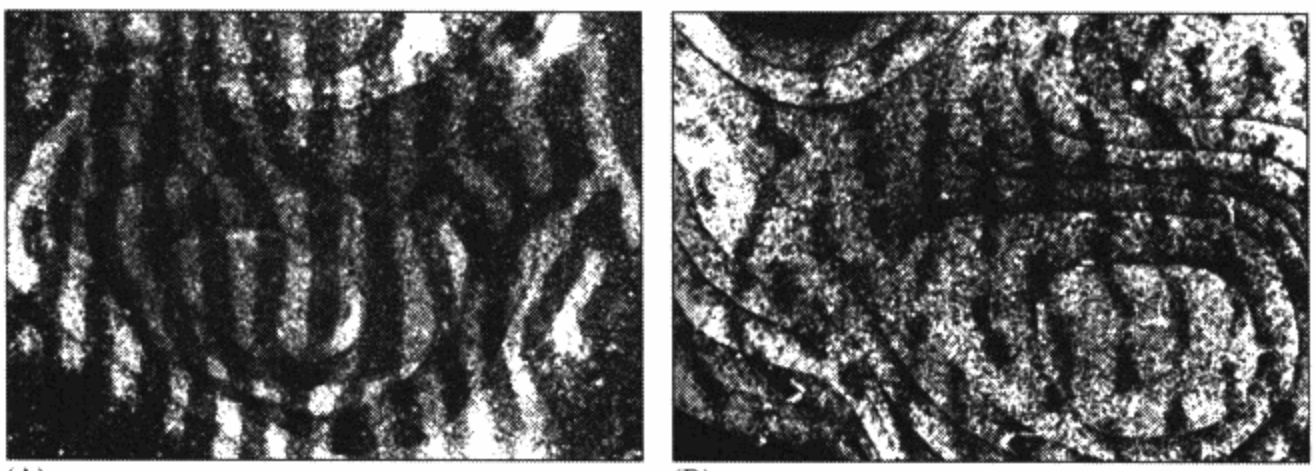


图 21-105　猴脑视皮层的视觉柱状分布，以及对视觉经验的敏感性

（A）通常代表左眼的条带和代表右眼的条带等宽并呈交替分布。向一支眼注入放射性示踪染料，并给予充分时间使其能被运输到视皮层中，然后做切片、放射自显影，并可显示图中所示条带。（B）如果在发育的关键时期蒙上一只眼睛，该条带将变扭曲，且代表能感受视觉的眼睛的条带扩大。这样，被蒙住的眼睛将失去视觉的能力（引自 D. H. Hubel，T. N. Wiesel，and S. Levay，*Philos. Trans. Roy. Soc.*（*Biol.*）278：377～409，1977，© The Royal Society）

突触联系模式的维持对于早期的经验特别敏感。如果在某一关键时期（人类大约 5 岁左右结束），一只眼睛被蒙住使失去任何的视觉刺激，而另一支眼给予正常刺激，那么被蒙住的眼睛将失去与大脑皮层的突触联系，并最终不可逆地变瞎。如兴奋规则所预示的那样，由于竞争的存在，视皮层中活性较低的轴突产生的突触会消退，而活性高的轴突产生的突触会得到加强。这样与皮层保持联系的都是传递信息的轴突，而静息的轴突则消失，以减少空间和能量的浪费。

在建立与视觉有关的神经联系时，不光是视觉刺激的量很重要，同时不同位点间的时间协同性也很重要。例如，感受深度的能力——立体视觉，就和视觉皮层的多层细胞有关。这些细胞同时接受两眼观察同一视场但视角稍有不同时产生的两组信息并整合。这些同时和两眼相联系的细胞通过两组信息的整合，使我们能感知被观察物体的深度和距离。但是，如果在关键时期让两眼无法同时观察同一场景，例如，交替蒙上一只眼或者在小时候发生斜视，这样在视皮层中便无法保留两眼同时支配的细胞，人的立体感觉也就不可避免地消失了。显然，由兴奋规则可知，只有当人的双眼同时观察时，才会有来自两眼的轴突同时兴奋和传递到同一神经元，只有这样，两种轴突才会同时被保留，从而产生被两眼同时支配的视皮层细胞。

成人的记忆机制可能和发育时的突触重塑机制是一致的

我们在第 11 章中已经看到，在记忆过程中，成人大脑的部分区域突触联系是会发生改变的，特别是在海马部位，与谷氨酸的一种特定受体——NMDA 受体的行为密切相关。该受体激活后，钙通道打开，突触后膜发生钙内流，从而引起突触前膜及突触后膜结构的长期变化。在成人大脑中由 NMDA 受体引起的突触结构变化的机制遵循与兴奋规则相类似的规律：在外部世界发生的事件，若引起两神经元同时或连续活化，这两个神经元之间将发生突触联系，或已有的突触联系加强。这一规律又称为 Hebb 规则，是引起联合型学习的基本规律之一。

那么，这是不是意味着成人的学习记忆与发育过程中更为剧烈的突触可塑调整是受同一基本的突触调节机制的控制呢？有很多实验暗示这也许是真的。例如，特异抑制 NMDA 受体活性的抑制剂能影响发育过程中视觉系统的突触重塑过程。但这个问题仍然没有得到完美的解答。后天经验影响大脑突触重塑的分子机制，这是神秘的神经系统留给当代细胞生物学家的中心挑战之一。

小结

神经系统的发育有三个阶段：首先，通过细胞分裂产生神经细胞；随后，分裂停止，神经元发出轴突和树突，和远处的其他细胞形成丰富的突触联系；最后，根据神经网络内电活动的强弱调整和重塑突触联系。

神经元及神经胶质细胞由外胚层前体细胞产生。其产生的部位和时间不同，将引起差异的基因表达，从而决定它们之间形成的联系类型。神经元通过生长锥发出轴突和树突，并沿特定信号分子所指定的路线延伸。胚胎脊髓的一些结构，如底板，同时分泌化学诱导物和化学抑制物，而不同来源的生长锥对其响应不同。一旦到达了靶区域，轴突选择性地终止于一系列可接近细胞，并在此基础上形成神经投射图谱——一群神经元有规律地投射到另一群神经元上。在视网膜-视顶盖系统中，图谱的形成基于两类细胞间互补的位置特异的细胞表面分子标记系统的相互配对——ephrin 和 Eph 受体。

在生长锥到达靶位点并形成初步的联系后，出现了两种类型的调整。在第一类调整中，由于竞争靶组织分泌的有限的生存因子（如神经生长因子 NGF），许多神经元发生编程性死亡。这种细胞死亡可以根据靶组织的大小调整支配的神经元的量。在第二类调整中，某些突触被加强，而某些则消退，以此形成一种更为精确和有序的联系模式。这后一种过程主要取决于电活动强度：频繁活动的突触得以加强；若不同的轴突支配同一靶神经元，只有它们发生同步活化，这种共同支配才会得以保留。通过这种方式，脑的结构能够被调整以反映外部事件间的联系。这种突触可塑性的分子机制可能和产生记忆的机制是相似的。

植物发育

植物和动物在进化上是在大约 15 亿年前分开的。它们进化出它们各自的多细胞有机体，但是使用的是同一套起始的“工具”，即从它们共同的单细胞祖先那里继承下来的一整套基因。植物和动物发育模式大部分差异来自于植物的两个基本特性。第一，植物通过太阳光而不是摄取别的有机体来获取能量。这就意味着它们的机体结构与动物不同。第二，植物的细胞被细胞壁包裹着并且黏合在一起，从而使得植物细胞不能像动物细胞那样自由移动。这就使得植物以一种不同的机制来构建机体，并且通过不同的发育过程来适应多变的环境。

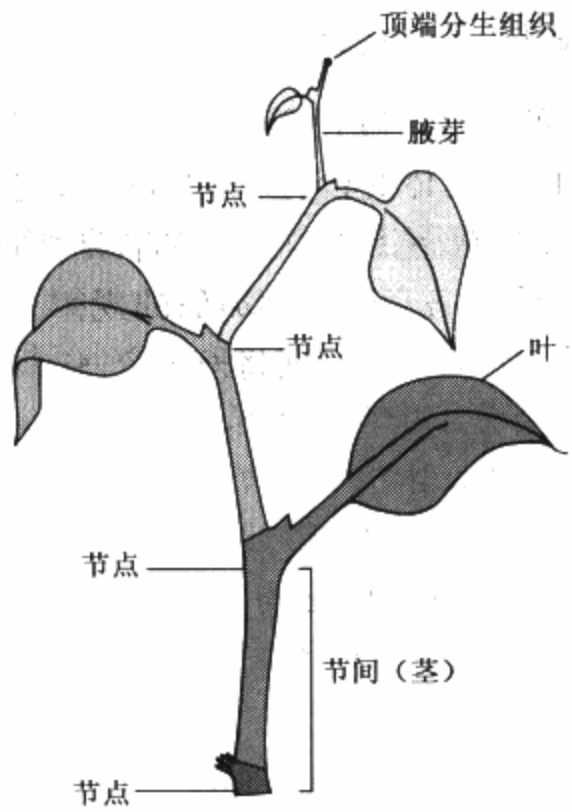


图 21-106　植物组成的简单模式图

每一模块都是由茎、叶和包含分生组织的芽组成的。芽在分枝点或者节的部位形成，同时叶从茎中分出。顶端分生组织的持续活动顺序形成各个模块

动物的发育在很大程度上可以对环境的变化起缓冲作用，动物的胚胎可以产生出相同的机体结构而不受外界因素的影响。相反地，大多数植物的发育会受到环境的显著影响。由于植物不能通过移动使自己适应环境，它们通过改变发育的过程来适应这一变化。这种策略带有相当的机会主义色彩。植物器官（叶、花或者根）可以在不同的环境下通过不同的途径从受精卵生成。例如，秋海棠的叶插在地上可以生根，根又能够产生芽，芽在阳光下又能产生叶和花。

成熟的植株是由许多标准的小“模块”组成的（图 21-106）。这些模块产生的位置和时间在很大程度上是受环境影响的，这就使得植物的结构千姿百态。是改变模块的组成还是改变整个植物的结构依赖于外界的因素和长距离的激素信号，这些在动物的发育过程中起到较小的作用。

但是尽管植物的整体结构（根或枝的形态，叶或花的数目）可以有很大的不同，但是在小范围内的详细组成却是不变的。叶、花确切地说是早期的植物胚胎，和动物器官一样特异包含有特定的结构，同时也包含着不确定的分枝和发芽。植物的内在组成使得它在遗传控制方面和动物发育产生了相同的问题并且通过相类似的途径得以解决。这一部分我们重点介绍的是开花植物的发育机制以及植物和动物的相同和相异之处。

图 21-107　拟南芥

这种小的植物是芥菜属的一个成员，它是一种没有经济价值但是在植物发育遗传学研究中有重要价值的植物（引自 M. A. Estelle and C. R. Somer ville, *Trends Genet* 12: 89～93, 1986. © Elsevier）

拟南芥作为一种植物分子遗传学的模式生物

尽管各种开花植物有很大的不同，它们却有一个相对较近的起源。最早的化石是在一亿两千五百万年前，而脊椎动物的化石在三亿五千万年前或者更早的时候就出现了。因此，开花植物在分子机制上有很大的相似之处，就像我们将会看到的那样，一个小的遗传上的改变就可以影响到植物的整个结构；并且就像植物生理能够使得它在许多不同的环境中都可以生存一样，它也可以在不同的结构形式下生存。使得动物形成两个头的突变体通常是致死的，但是使得植物的花或者枝的数量加倍的突变体却不会那样。

为了寻找控制植物发育的基因和研究它们的功能，植物生物学家选择了一种小的杂草拟南芥作为一种模式生物（图 21-107）。和果蝇、线虫一样，拟南芥比较小并且能够快速繁殖，非常适合于遗传学研究。它适宜于在室内用培养皿或者小的花盆大量种植，并且 8～10 周后就能产生大量的种子。在遗传学上，它和线虫一样，有优于果蝇和脊椎动物的特点：和许多开花植物一样，它是雌雄同体，同一朵花既能产生卵细胞，又能产生和它受精的雄性生殖细胞。因此，

当一个有隐性致死突变的花进行自体受精的时候，有 1/4 的种子具有纯合的胚胎表型。这就使得非常容易进行遗传筛选（图 21-108）从而得到许多能够调节特殊发育过程的基因。

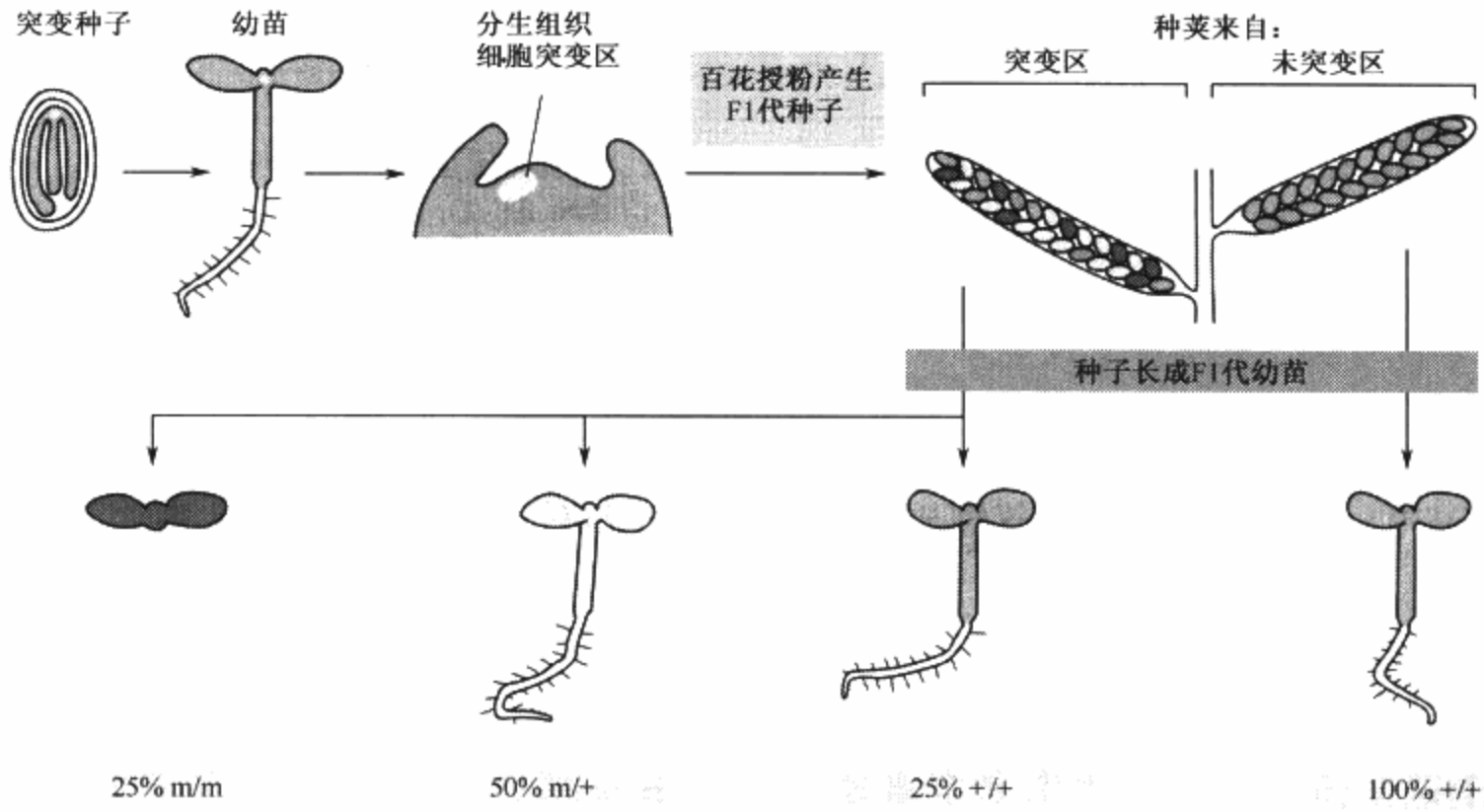


图 21-108　拟南芥突变体的形成

包含有多细胞胚胎的种子用化学诱变剂处理，使其长成一株植株。这样的植物是由不同突变细胞组成的嵌合体，而由它产生的一朵花通常是由属于相同克隆的细胞组成的，都是以杂合的形式携带相同的突变（m/+）。通过自花授粉，平均有一半是杂合体（m/+），有 1/4 是纯合的突变体（m/m），另外 1/4 是纯合的野生型（+/+）。通常突变体有隐性致死功能，就像在这里表示的 m/m 幼苗缺失了根一样，突变体的种子通过杂合体来保存

拟南芥基因组富含发育控制基因

拟南芥的基因组是最小的植物基因组之一——1.25 亿个碱基对（和线虫、果蝇的基因组差不多），它的全基因组序列已经测定。拟南芥的基因组中包含有大约 26 000 个基因，但是，这些基因包括许多最近分离的复制基因。因此，功能性的蛋白质的数目可能比较少。细胞培养和遗传转化的方法已经建立起来，同时，通过可移动的遗传元件的随机插入产生的突变体库也已经建立起来，因此，任何基因突变的植物都可以通过订购得到，这些强大的工具用来分析基因的功能。尽管只有一小部分的基因通过实验的方法已经确定，在拟南芥和其他生物基因序列相似性的基础上大约有 18 000 个基因的功能可以确定。

拟南芥的基因组比多细胞动物的大，它的基因组中富含编码基因调节蛋白的基因（表 21-2）。一些主要的动物基因调节蛋白家族（如 DNA 结合蛋白的 Myb 家族）在植物中得到极大的拓展，而另外一些（如核内的激素受体）似乎全部消失，植物中一些大的调节蛋白家族在动物中没有同源基因。

尽管在植物和动物中有同源的基因调控蛋白，但是它们所调控的基因或者所调控的发育过程却有很大的不同，而且在 DNA 结合结构域外存在很少的保守序列。

和多细胞动物一样，拟南芥中有许多细胞信号转导基因（在 18 000 已确定的基因中有1900 个基因），但是这些基因的特定功能却有很大的不同，在拟南芥的基因组中不存在 Wnt、Hedgehog、Notch 和 TGF 信号机制。作为一种互补的机制，其他植物所特有的信号途径在植物中高度发展。酪氨酸激酶类的细胞表面受体在拟南芥中完全缺失，尽管在动物中这些受体的许多下游

信号元件存在。相反的，丝氨酸/苏氨酸激酶类的受体却相当多，但是它们和动物中的丝氨酸/苏氨酸激酶类受体作用于不同的系统。还有一类特别重要的基因在植物的发育过程中起作用：有超过 700 个植物细胞壁的合成和重塑基因和超过 100 个光的捕获和反应基因。

表 21-2　拟南芥、果蝇、线虫和酵母中一些主要的基因调控蛋白家族

家族	基因组分析预测的家族成员数目			
	拟南芥	果蝇	线虫	酵母
Myb	190	6	3	10
AP2/EREBP（Apetala2/2 烯应答元件结合蛋白）	144	0	0	0
bHLH（基本的）	139	46	25	8
NAC	109	0	0	0
C2HX（锌指）	105	291	139	53
Homecbox	89	103	84	9
MADS box	82	2	2	4
bZIP	81	21	25	21
WRKY（锌指）	72	0	0	0
GARP	56	0	0	0
C2C2（锌指）/GATA	104	6	9	10
核激素变体	0	21	25	0
C6（Zn finger）	0	0	0	52
预计总数（包括没有列出的）	1533	635	669	209
占基因组基因数的/%	5.9	4.5	3.5	3.5

注：表中只列出了在至少一种物种中成员数超过 50 的家族（数据来自 J. L. Riechmann et al.，*Science* 290：2105～2110，2000）。

现在我们要讨论的是植物的基因是怎样调控植物发育的。

胚胎发育开始于根-茎轴向的建立，结束于种子的形成

在专题 21-1 中总结了开花植物有性生殖的基本策略。高等植物的受精卵通过不均等分裂使成熟胚胎的极性建立起来，不均等分裂产生的其中一个细胞有密度比较大的细胞质，它最终会形成胚胎，产生的另一个细胞有较大的液泡，通过进一步的分裂形成胚柄，它相当于动物的脐带。胚柄使得胚胎与营养组织相连，从而提供营养传递的通道。

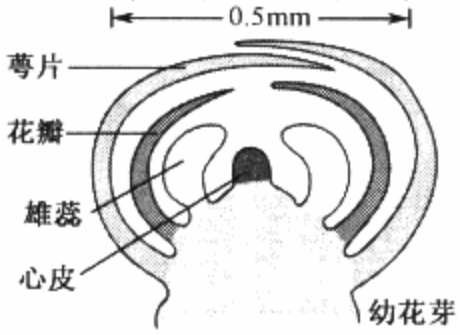
在发育的下一阶段，双倍体的胚胎细胞增殖形成大量细胞并建立起极性结构。这些增殖细胞主要由两部分细胞组成，一部分位于胚柄的末端使得胚柄最上端的细胞产生根，另一部分在相反的方向产生芽（图 21-109）。这种根-茎轴向的产生与动物中头-尾轴向的建立相类似，同时有可能在胚的最外层形成未来的表皮细胞。在内层的大部分细胞形成未来的基本组织细胞，在中心形成未来的微管束细胞（专题 21-2）。这三层细胞相当于动物胚胎发育过程中的那三层细胞。在发育的晚期，芽的前体——子叶开始形成，在单子叶植物中只有一片，而在双子叶植物中有两片。在这个阶段之后，胚的发育就停止，从而包裹在种子里面，以利于在苛刻环境下进行保存。种子内的胚胎在干燥环境下特别稳定，可以休眠很长时间，甚至数百年，在适宜条件下，种子萌发，胚胎继续发育。

和果蝇及线虫一样，在拟南芥中也可以用遗传学的方法来确定控制胚胎发育的基因，并且依照它们纯合突变体的表型将它们分类。有些基因是与幼苗根、叶顶端的形成有关的；有些是与三种主要的组织——表皮、基本组织和微管束的形成有关；还有一些是与细胞形态的组织改变有关（图 21-110）。

专题 21-1　开花植物早期发育的特征

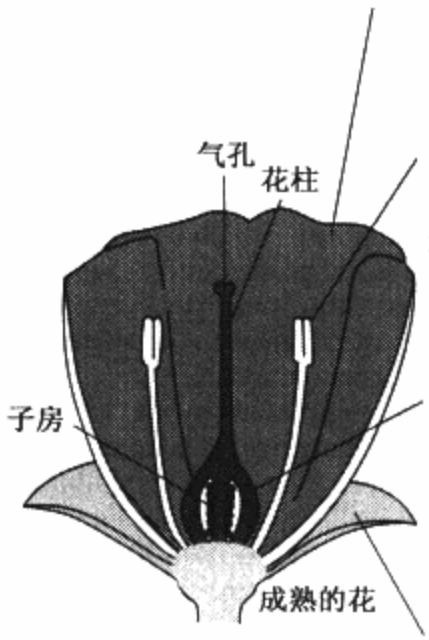
花

包含有高等植物生殖细胞的花是从植物茎端分生组织的营养生长来的（图 21-115 和图 21-122）。它们终止了分生组织进一步的营养生长，日长节律和温度这些环境因素促进植物从营养生长向生殖生长转变。生殖细胞在植物发育的晚期是从体细胞分化而来的，并不是像动物那样存在生殖细胞系。



花的结构虽然是各种各样并且具有物种的特异性，但是大体上都是由 4 种变性叶组成的

花瓣：叶状结构，通常有鲜艳的颜色，通过吸引昆虫有利于传粉。



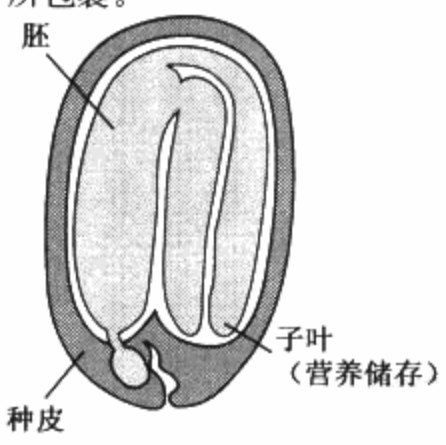
雄蕊：由能够进行减数分裂并形成单倍体的花粉粒的细胞组成的器官，每一个花粉粒都包含有两个雄性生殖细胞。花粉落在雌蕊上开始萌发，花粉管输送这两个精细胞进入子房。

雌蕊：由一个或多个子房组成的器官，每一个子房都包含有多个胚珠。胚珠内的细胞经过减数分裂形成包含有卵细胞的胚囊。受精的时候，其中的一个精细胞与卵细胞结合形成了双倍体的胚，另外一个精细胞与胚囊中的两个细胞结合形成三倍体的胚乳。

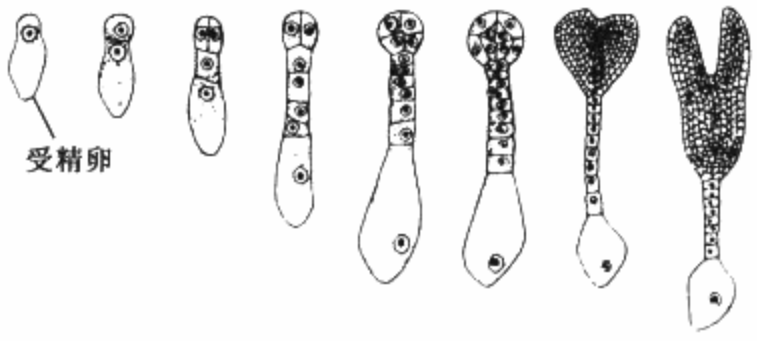
花萼：在花的早期发育中形成的叶状的保护结构。

种子

种子由休眠的胚、营养组织和种皮组成。在发育的晚期，种子的含水量从 90%降到 5%。种子通常是被母系起源的果实所包裹。

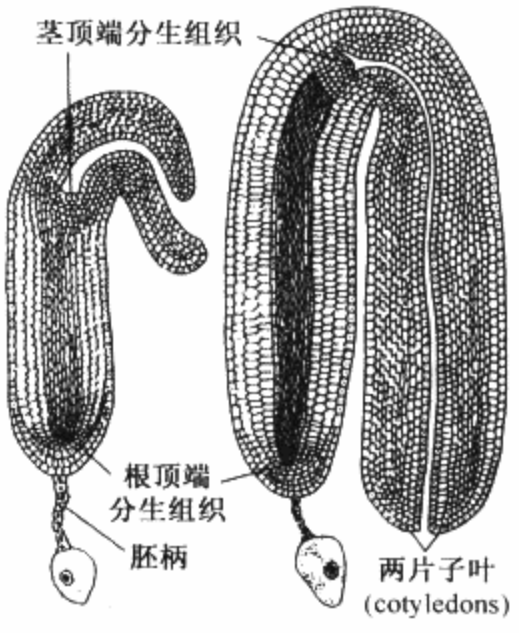


胚



胚珠中的受精卵利用胚乳中的营养发育形成了胚。在这里显示的是一种称作荠菜的普通杂草，通过一系列复杂的细胞分裂形成了含有根端分生组织、茎端分生组织和一片或两片子叶的胚。

发育在这一时期停止，这时包含有胚的胚珠发育成了种子，以适应种子的散布和生存。

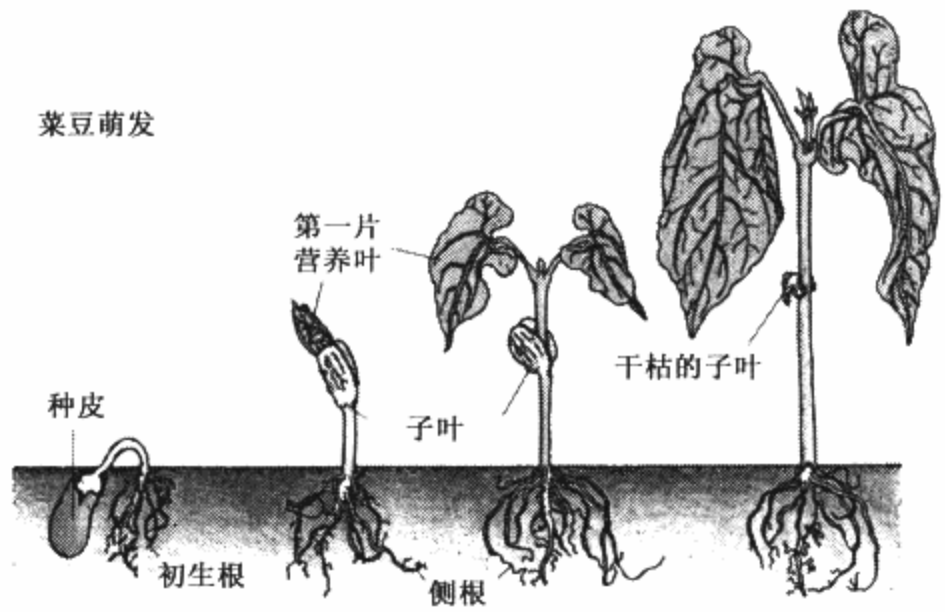


萌发

胚胎重新生长依赖于种子的萌发，这一过程依赖于内部因素（休眠）和包括水、温度和氧气的环境因素。早期发育的营养存在于胚乳（玉米）或者子叶（豌豆和大豆）中。

主根首先从种子里出现以保证幼苗早期水的供应。子叶可能像图片中菜豆一样长出地表，也可能像豌豆一样留在地下，这两种情况下子叶都最终枯萎。

顶端分生组织具有持续生长的能力，产生了特征性的节、节间和芽的结构（图 21-106）。



专题 21-2　组成高等植物的细胞类型和组织

右边显示的开花植物主要由三大类器官组成：叶、茎和根。每一种植物器官依次由三种组织系统所组成：基本组织（■）、表皮组织（■）和微管组织（■）。

三种组织系统都是通过茎端分生组织或者根端分生组织的细胞增殖最终得到的，每种组织都包含有相对数量较少的细胞类型，这三种基本的组织系统和组成它们的细胞在这一专题中进行介绍。

三类组织系统

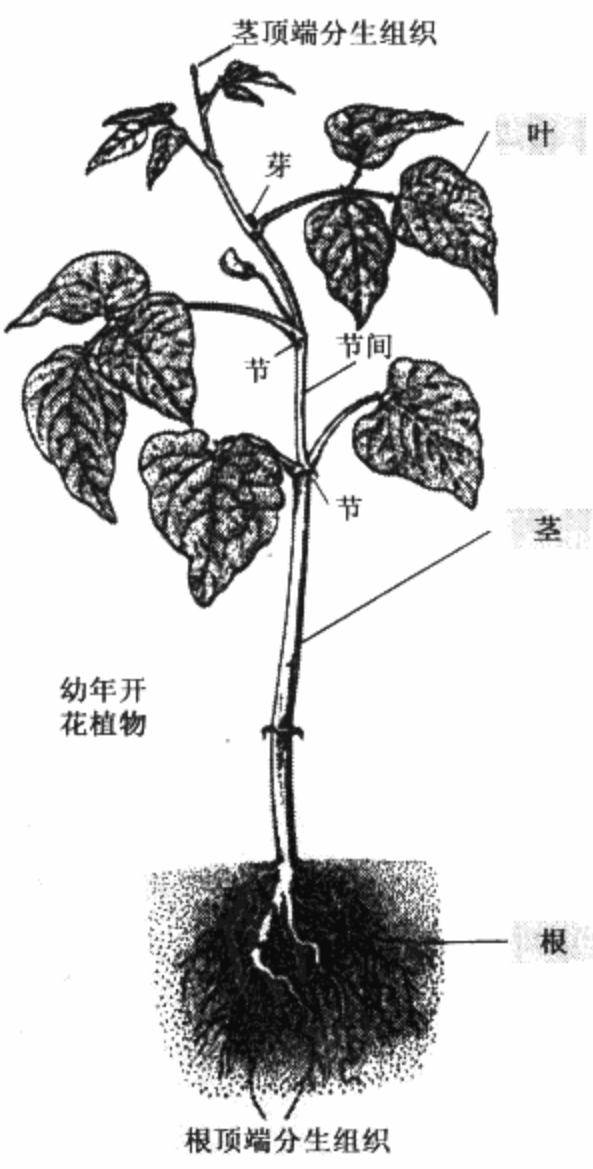
细胞分裂、生长和分化产生了具有特殊功能的组织。

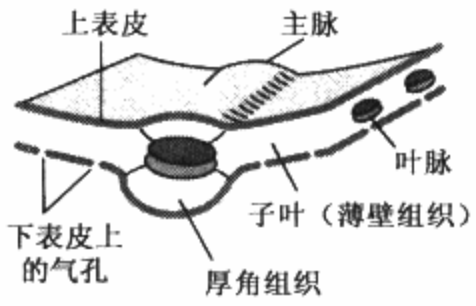
表皮组织（■）：这是植物最外层与环境紧密联系的保护组织。在根部它有利于水和离子的吸收，在叶和茎中调节气体交换。

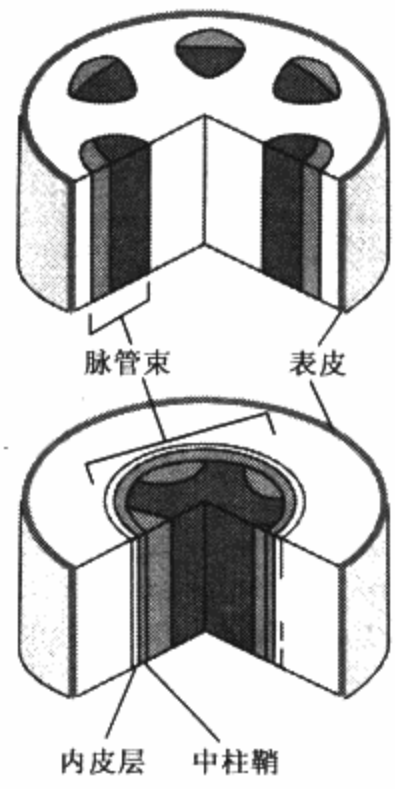
微管组织：木质部（■）和韧皮部（■）在植物中形成了连续的微管系统。该组织在各个器官间运输水分和可溶性物质并且提供机械支持作用。

基本组织（■）：这种支撑组织组成了幼嫩植物的大部分，它也在营养合成和储存过程中起作用。

植物



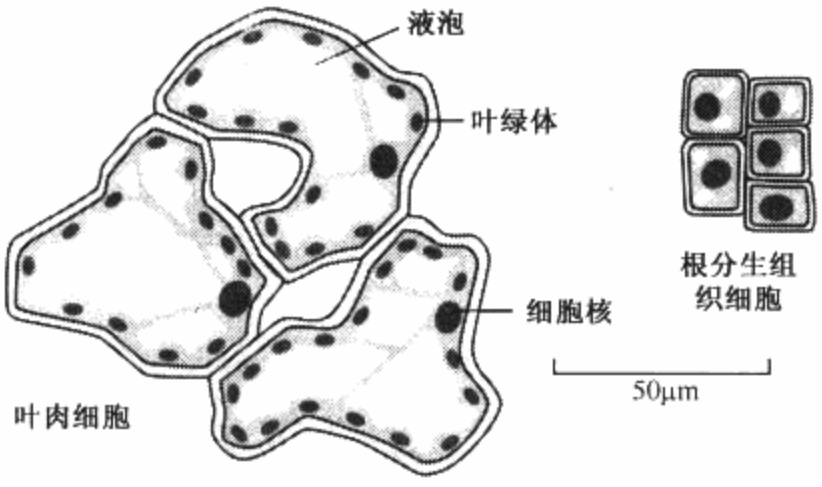


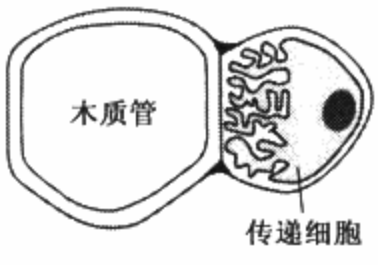


基本组织

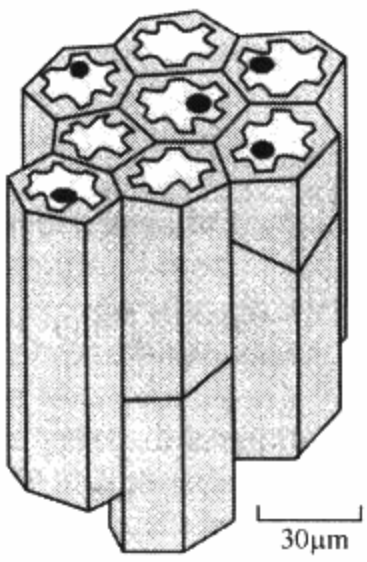
基本组织系统包括三种主要的细胞类型——薄壁组织、厚角组织和厚壁组织。

薄壁组织存在于所有的组织系统。它们是有活性的细胞，有进一步分裂的能力，并且都有一个薄的初级细胞壁。这类细胞有各种各样的功能。茎端和根端的顶端分生组织和侧生分生组织提供了生长所需的新细胞。在叶和茎的光合作用细胞中能够进行营养的合成和储存，储存性薄壁细胞组成了果实和蔬菜的大部分结构。由于薄壁细胞具有增殖能力，它们也作为伤口复员和再生的干细胞。

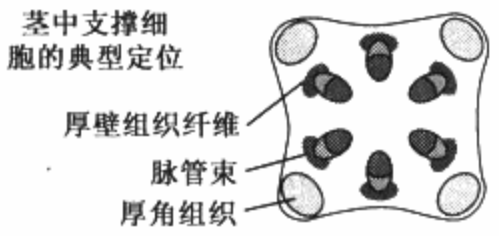


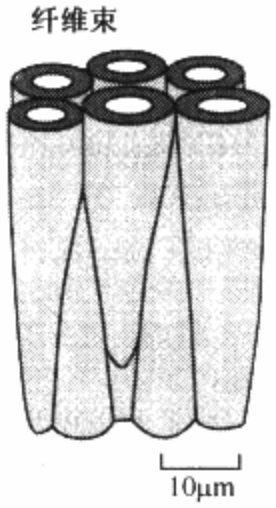


传递细胞是一种特殊的薄壁细胞，它是由初级细胞壁的内向生长而形成的。在这种细胞壁下面质膜面积的增加有利于可容物的快速传递并且形成微管束系统的细胞。

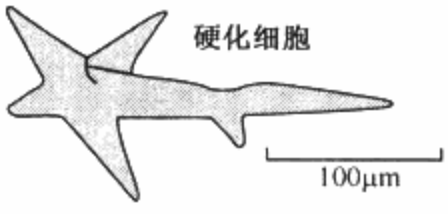


厚角组织是与薄壁组织相类似的活细胞，但是它们具有非常厚的细胞壁并且通常组成长的线状纤维。它们能够延伸并且为植物伸长区的基本组织系统提供机械支持。厚角组织细胞在植物茎的表皮下区域特别普遍。





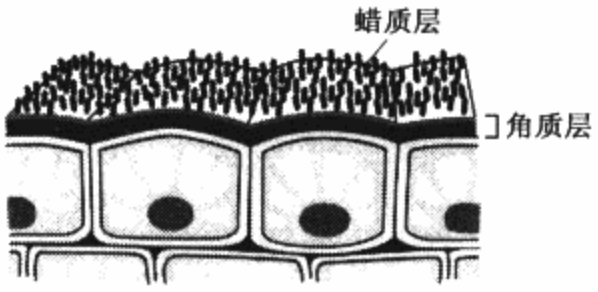
和厚角组织一样，厚壁组织具有伸长和支撑的功能。但是，它们通常是死细胞，具有木质化的次级细胞壁，从而抑制了它们在植物生长过程中的生长。两种基本的类型是能形成长束的纤维细胞和在种皮及果实中存在的石细胞。



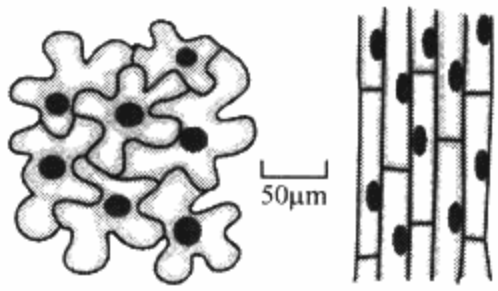
表皮组织

表皮是植物的第一层防护组织，表皮细胞也形成了气孔和各种的毛状结构。

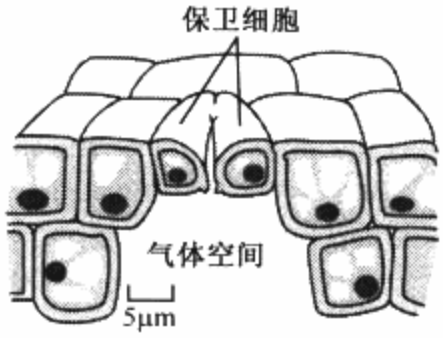
表皮



表皮（通常是一层的细胞）覆盖了幼嫩植物整个的茎、叶和根。这些细胞是有活性的，它们有厚的初级细胞壁，并且在它们的外面覆盖有一层蜡质结构。这些细胞以不同的方式紧密地结合在一起。

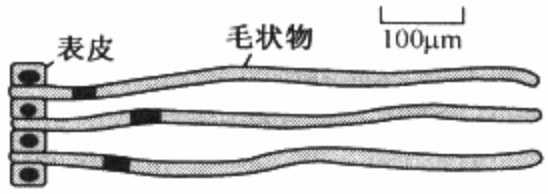


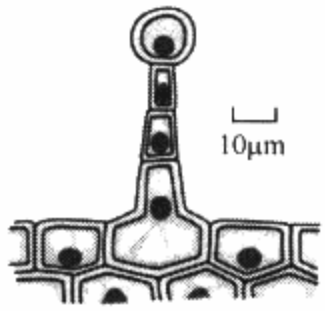
气孔



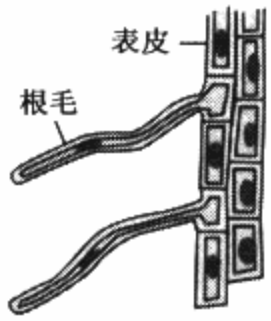
在表皮上气孔是开放的，主要分布在叶子的下表面，它能调控植物的气体交换。气孔是由两个称作保卫细胞的特殊表皮细胞组成的，保卫细胞调节气孔的直径。气孔的分布有其种属特异性。

毛状物是来自于表皮细胞的附属物，它们以不同的形态存在并且存在于植物的各个部分。毛状物在植物的保护、吸收和分泌过程中起作用；例如，在棉花种子的表面存在幼嫩的单细胞毛状物，随着生长过程，它的细胞壁会次生增厚形成棉花纤维。





天葵叶上多细胞分泌型毛状物

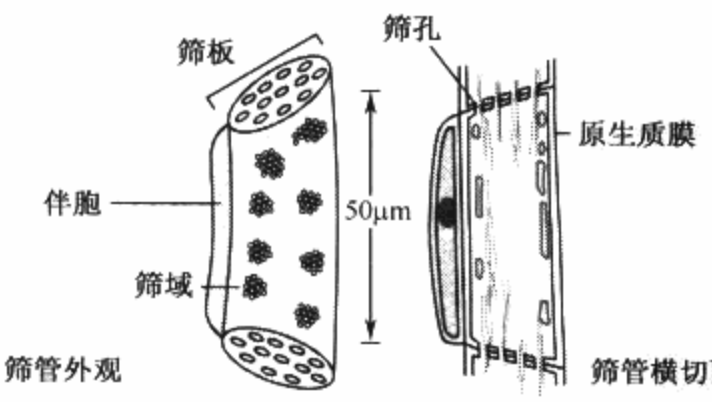


单细胞根毛具有吸收水分和离子的重要作用

微管组织

韧皮部和木质部一起在植物中形成了持续的微管系统。在幼嫩植物中它们通常与各种各样的其他类型细胞一起形成微管束。韧皮部和木质部都是复杂的组织。它们的输导元件与能够交换物质的薄壁组织细胞相联系。同时，大量的厚角组织细胞和厚壁组织细胞提供机械支持作用。

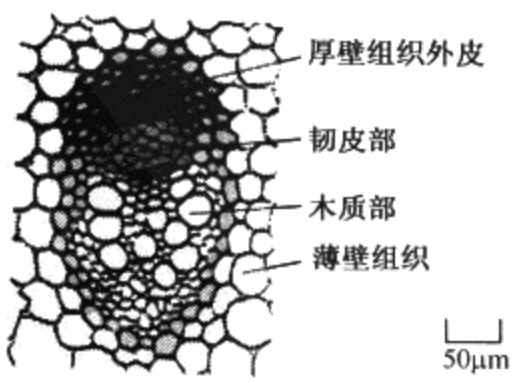
韧皮部



韧皮部在植物中主要是运输有机可溶物。主要的输导细胞排列成束，称为筛管。成熟的筛管是有活性的细胞，通过它们细胞壁末端穿孔形成扩大的胞间连丝互相连接。这些细胞还保留它们的质膜，但是已经失去了核和大部分的细胞质；因此它们需要依靠伴胞来维持。这些伴胞还具有另外的功能，就是运送可溶性的营养物质进出筛管。

维管束

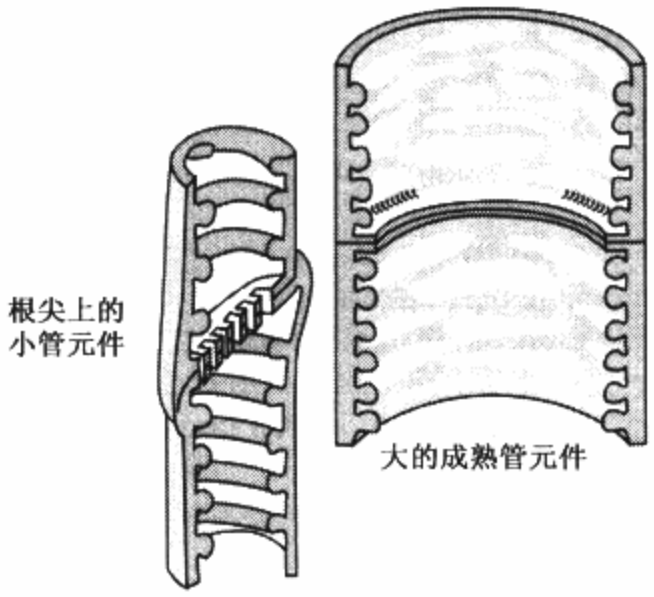
根通常有一个简单的维管束，但是在茎中却有多个的维管束。它们在双子叶植物中有严格的对称，但是在单子叶植物中分布不规则。



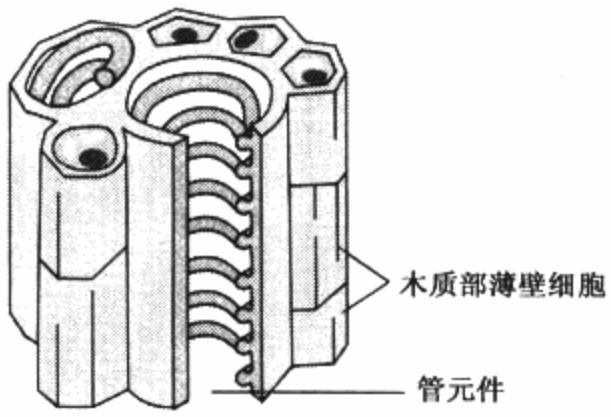
幼嫩金凤花茎部典型的维管束

木质部

木质部在植物中运输水分和无机盐。主要的输导细胞是导管，它们是成熟的死细胞，缺少质膜。细胞壁已经次生加厚并且严重地木质化，如下所示，它末端的细胞壁大部分都移除，从而形成长的管状结构。



管胞是木质部的薄壁细胞，它可以通过薄壁细胞的质膜选择性地运输可溶物进出导管。



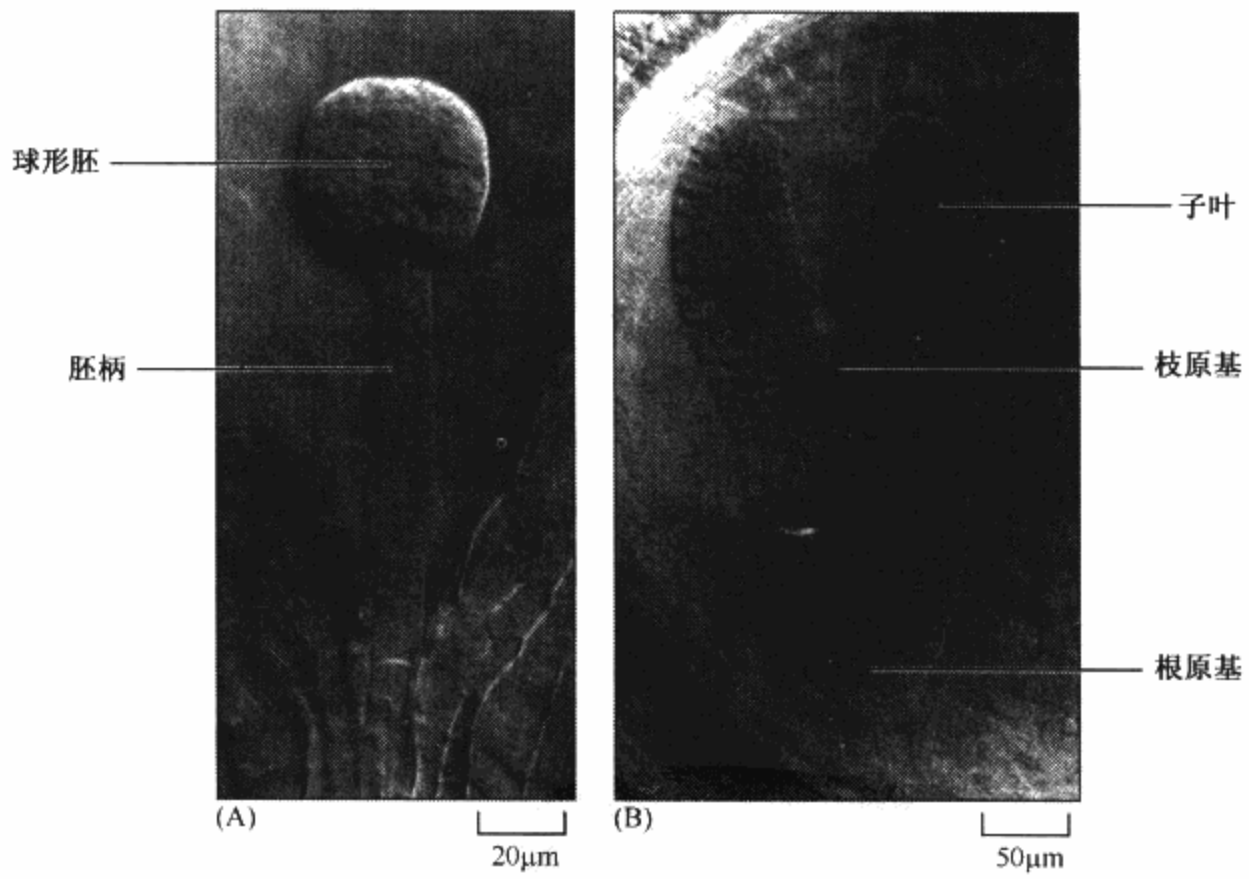


图 21-109　拟南芥胚胎发育的两个阶段（引自 G. Jürgens et al.，*Development* I：27～38，1991. © The Company of Biologists）

植物的各部分是由分生组织产生的

大体来说，昆虫或者脊椎动物的胚胎是其机体的一个缩影，在其长大的过程中填充了机体结构的细节。但是，植物的胚胎发育却是依照了另一种途径：成熟植物的各个部分是通过若干群细胞增殖形成的，这些细胞称为**顶端分生组织**，每一分生组织都是由一群能自我更新的干细胞组成的，在分裂过程中，它们产生一系列的后代来取代分生组织区，然后增大并且最终分化。尽管茎端分生组织和根端分生组织能够产生组成叶、根、茎的各种基本细胞，在

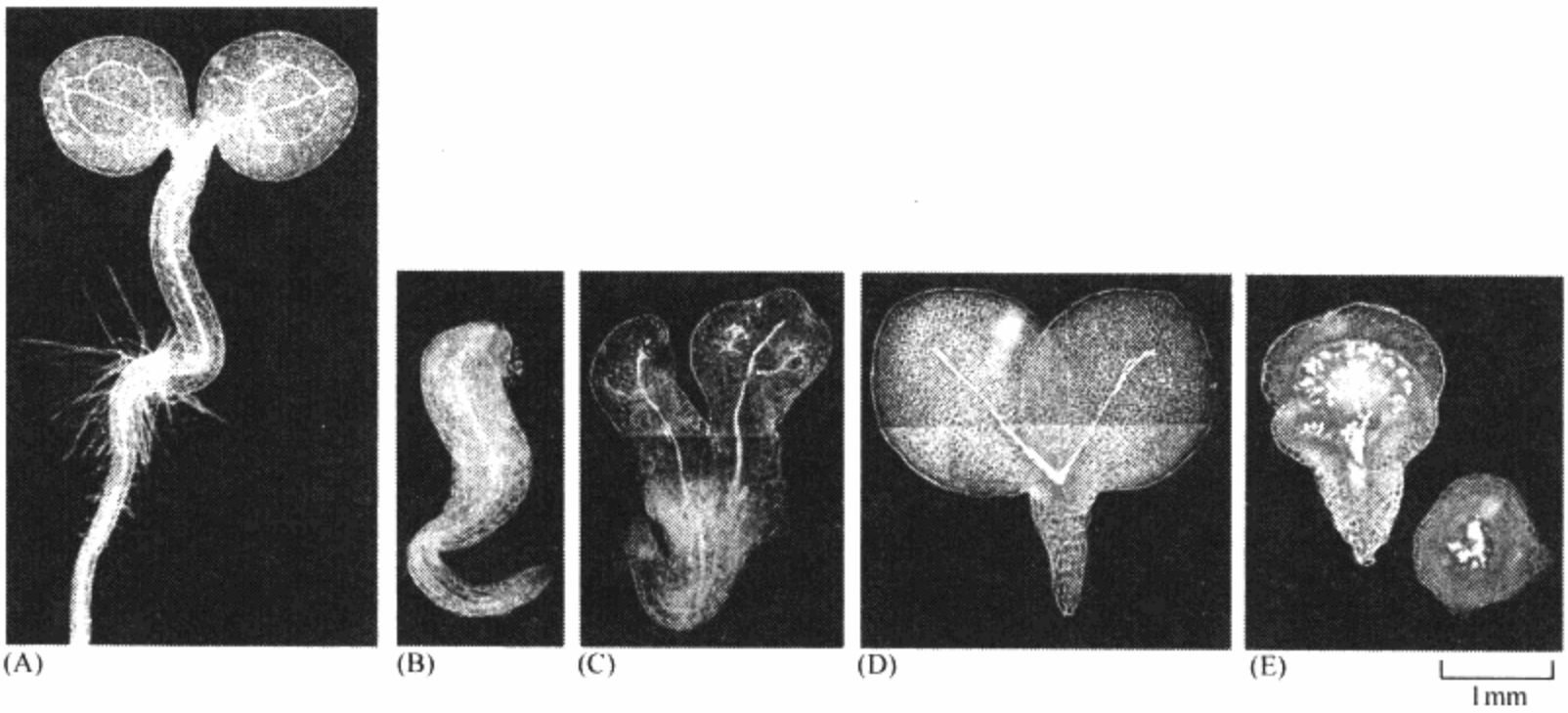


图 21-110　拟南芥幼苗突变体

通常的幼苗（A）与 4 种不同突变体的比较：（B）顶端缺失；（C）有顶端和根，但是它们之间的茎缺失；（D）缺失根；（E）形成茎组织但是两端缺失（引自 U. Mayer et al.，*Nature* 353：402～407，1991. © Macmillan Magazines Ltd.）

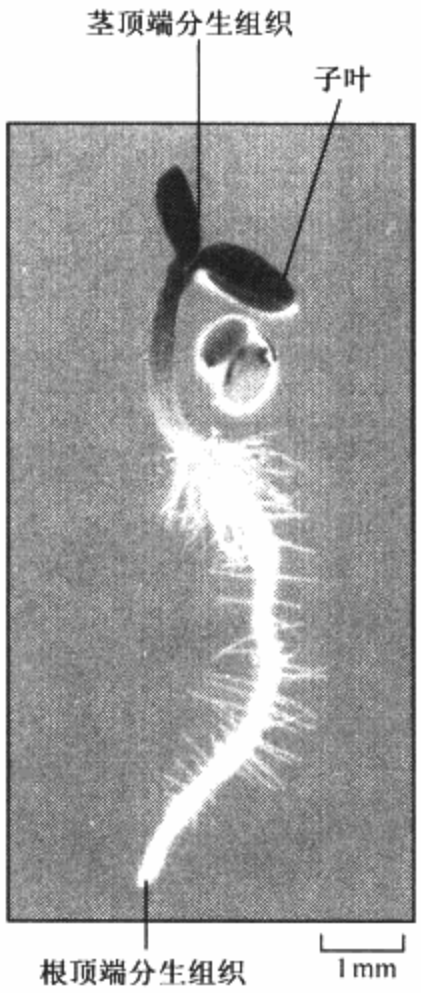


图 21-111　拟南芥的幼苗

在幼苗右侧棕色的是种子萌发后剩下的两半个种皮（经 Catherine Duckett 许可）

这些顶端分生组织以外的其他细胞也具有进一步增殖的能力。例如，树木和其他的多年生植物能够随着时间延伸它们的主干和根，并且在植物受到伤害时长出新芽。

茎端分生组织和根端分生组织在胚胎期就已经确定，在萌发过程中，种皮膨胀，非分生组织的细胞开始显著增大，从而促使根和芽的出现（图 21-111），这些都是由顶端分生组织快速而持续的分裂形成的。例如，玉米根的顶端分生组织细胞每 12h 分裂一次，每天能够产生 5×10^5 个细胞。迅速生长的根和茎能够指示环境的变化——根能够增强植物从土壤中吸收水和矿物质的能力，芽能够增强光合作用的能力（专题 21-1）。

幼苗的发育依赖于环境信号

从发芽开始，植物的发育显著地受环境信号的影响。芽要迅速地伸出地面，子叶一遇到光就必须能够张开并且迅速开始光合作用。从快速的地下生长到在光下生长转变的时间不是程序化的，这是由于播种的深度是不可预期的，发育的转换是由光来控制的。在幼苗中，光能够抑制一些称作油菜素内酯的植物激素的合成。油菜素内酯的合成或者吸收过程中基因的突变都能够使得幼苗的茎变绿，伸长缓慢，子叶在成熟前就已张开。

一种新结构的形成依赖于细胞分裂和生长的方向

植物细胞由于包被在细胞壁中，不能够随着植物的生长而发生移动，但是它们可以进行分裂、增大、伸长和弯曲，因此植物的形态建成依赖于细胞的有序分裂和严格的生长方向。例如，在根尖分生区的大部分细胞都经历了发育的三个阶

段——分裂、生长和分化，这三个在时间和空间上可以重合的阶段构成了根尖的结构特性。尽管细胞分化的过程开始于它们仍在生长的过程，在根尖中区分细胞分生区、细胞伸长区和细胞分化区相对来说还是比较容易的（图 21-112）。

在细胞分裂后的生长阶段，子代细胞的体积可能会增加 50 倍以上。这种生长是由基于膨胀压力的渗透压来推动的。它的方向是由细胞壁中细胞纤维的方向决定的，而且细胞纤维使得细胞的生长只能沿着一个方向（图 19-73）。纤维素的方向是由质膜中微管束的排列方向决定的，据认为微管束可以介导纤维素的沉积。乙烯和赤霉素之类的植物生长调节物质可以迅速地改变它们的方向性（图 21-113），但是这种动态的细胞骨架重组的分子机制还不清楚。

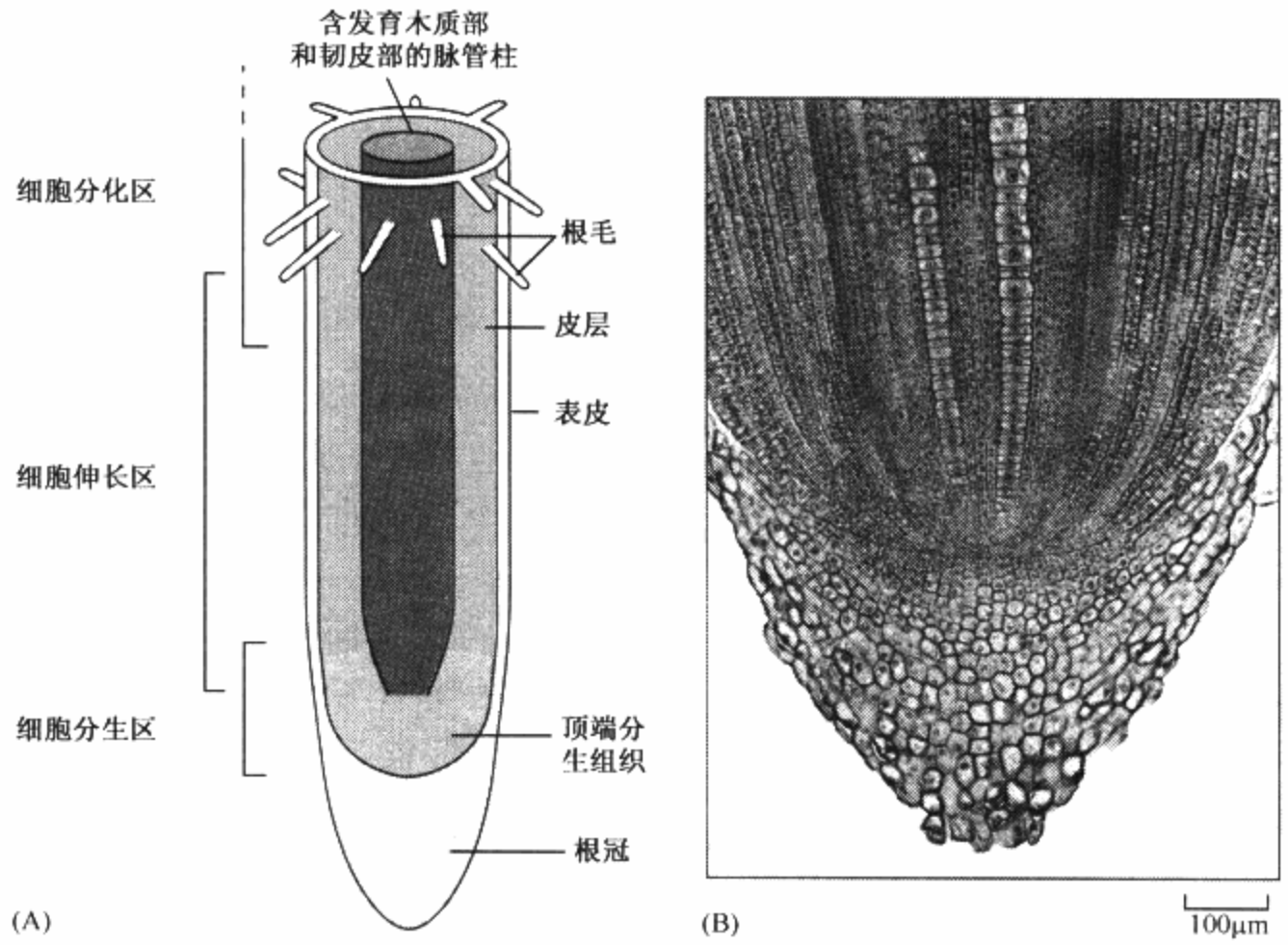


图 21-112　生长的根尖

（A）生长的根尖最前端 2mm 处的组织，显示出了细胞分裂、伸长和分化和它们的大概区域。（B）玉米根尖顶端分生组织和根冠，显示了顺序排列的细胞[（B）引自 R. F. Evert，Biology of Plants，4th edn. New York：Worth，1986]

每一植物模块都是由分生组织的一个原基生长而来的

顶端分生组织具有使自身永久存在的性质：在多年生植物中，只要植物还存活，它们就行使无限的功能，负责植物的持续生长和发育。但是顶端分生组织也能够产生第二类的产物，它的发育在叶或者花结构的形成过程中受到严格的限制，从而使它们具有确定的大小、形状和短的生活史。因此，随着营养性芽的伸长，在其后留下了顺序生长的节和节间，在节上有叶长出。分生组织的持续活动产生了大量相似的模块，每一个都是由茎、叶和芽所组成（图 21-106），这些模块通过支持组织和运输组织依次相连，由此产生了重复结构，这种发育的重复模式是植物发育的特征，同时也见于茎叶系统外的其他结构（图 21-114）。

尽管最终的模块非常大，就像动物胚胎一样，它的组织形式在微观上早已形成。在茎的顶端不到 1mm 的范围内，人们发现一个由一系列的膨胀物所围绕的小的中央区

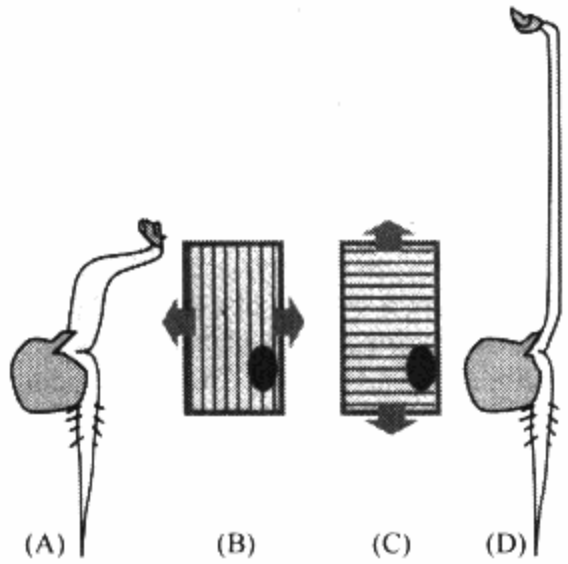


图 21-113　植物生长调节剂乙烯和赤霉素的不同作用

这些调节剂在玉米幼嫩茎中对细胞微管束的排列方向起相反作用。乙烯处理的典型细胞（B）使得微管在纵轴方向上排列，而赤霉素处理的细胞（C）在横轴方向上排列，新形成的微纤维与微管相平行。由于这影响了细胞增大的方向，赤霉素和乙烯在相反方向上促进细胞生长，乙烯处理的幼苗短而粗（A），赤霉素处理的幼苗长而瘦（D）

（图 21-115）。中央区是顶端分生组织本身，环绕的那些膨胀物就是叶原基。因此，这个小的区域包含了相互区分的许多模块，通过确定的细胞分化和生长的程序，每一个叶原基和它邻近的细胞会形成叶、节和节间。同时，顶端分生组织本身会产生新的叶原基，以便于能够产生越来越多的模块，因此，植物模块的组织是由茎端来控制的。在这一微小区域内的局部信号系统决定了叶原基的形态、一片叶子相对于另一片叶子的位置、它们间的距离以及相对于顶端分生组织本身的位置。

这种基本的重复结构的多样化产生复杂的结构，这些结构包括卷须、刺、分枝和花。因此，通过在茎端开启不同的基因，植物可以以不同的方式产生出不同类型的原基。

细胞信号维持着分生区的结构

这些所有现象的主要问题是顶端分生组织怎样保持它自身的活性。分生区的细胞必须随着植物的生长而持续地分裂，通过分化生成子代细胞来代替它们自身，通

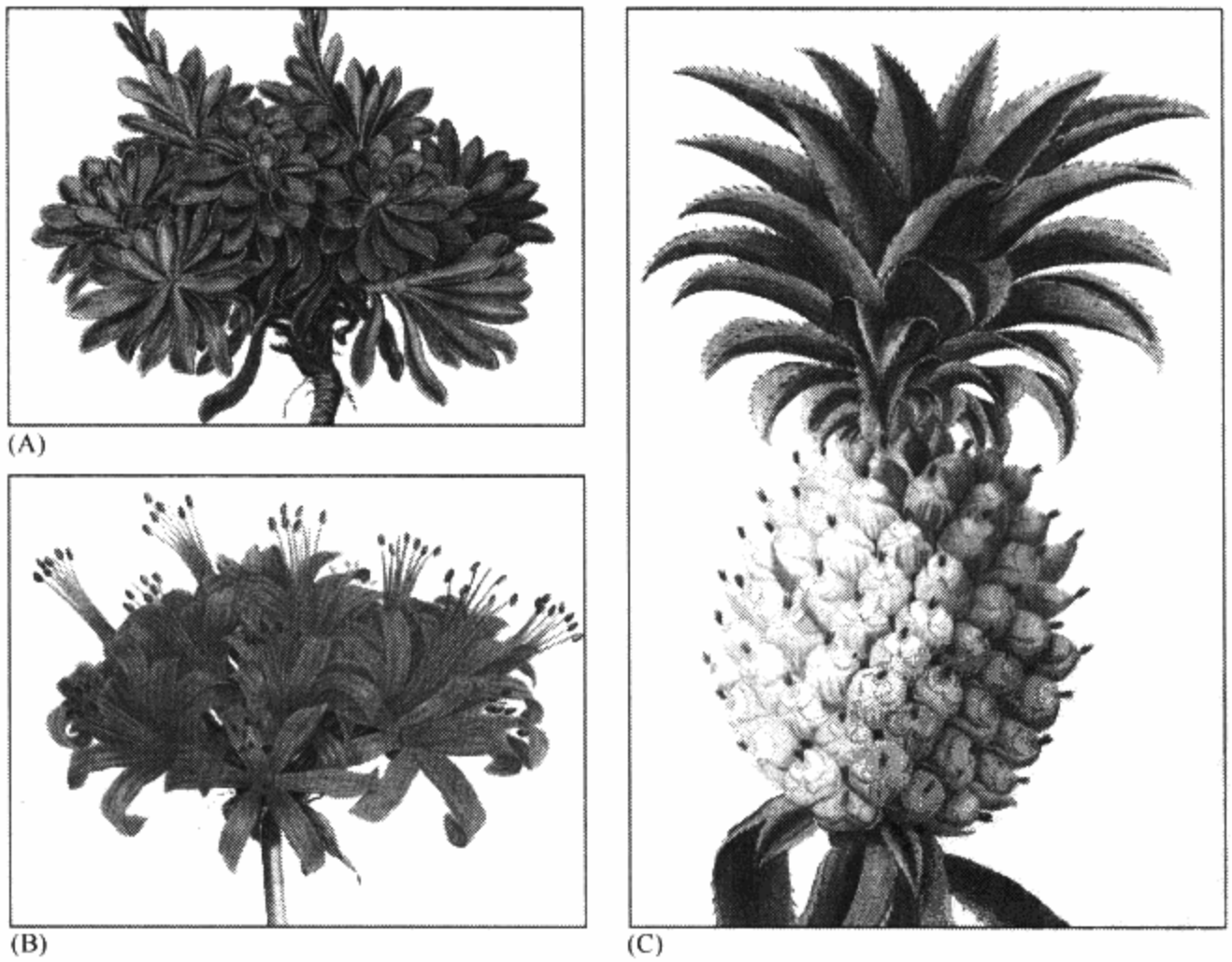


图 21-114　植物的重复结构

一个简单的顶端分生组织在叶（A）、花（B）和果实（C）中产生的重复结构

过这种机制，组成分生区的细胞基本上是恒定的（如在拟南芥中大约有 100 个细胞），当植物

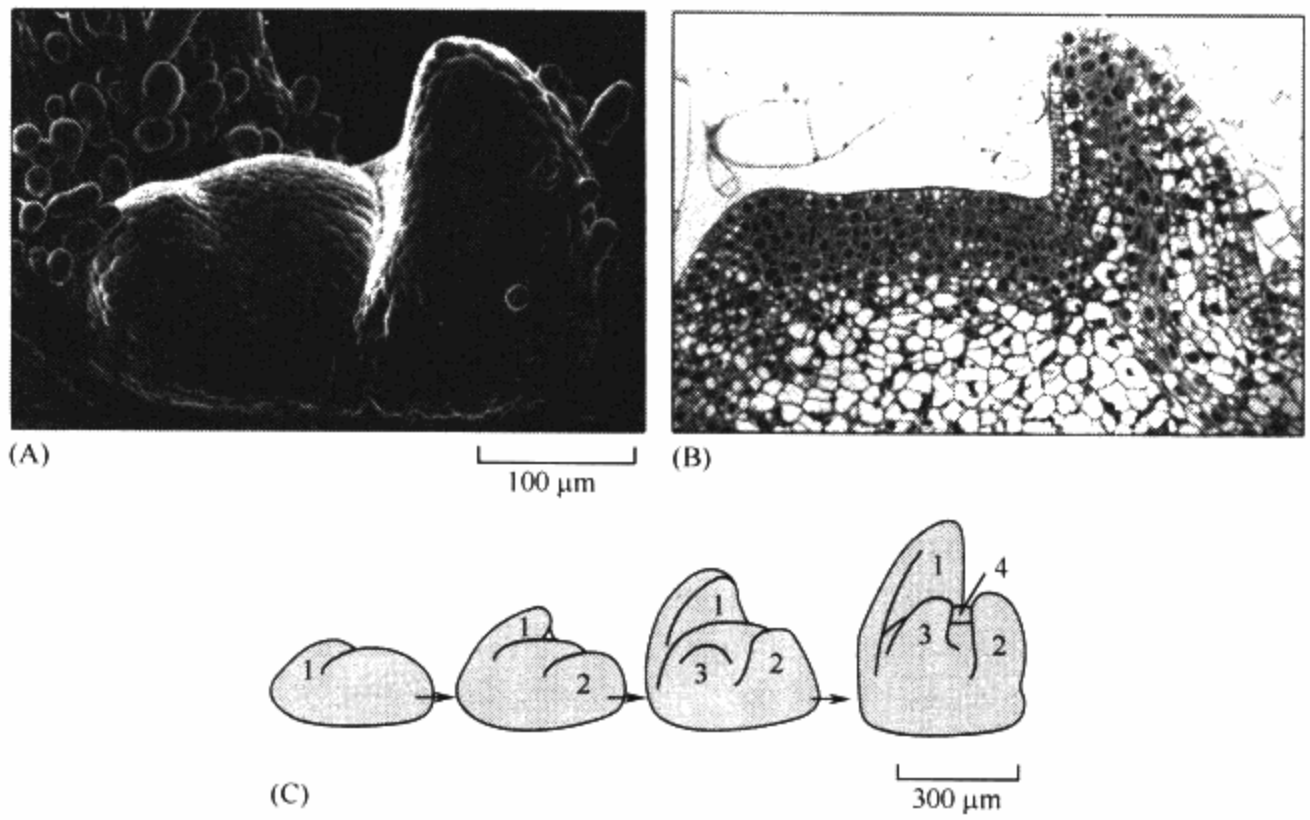


图 21-115　烟草的茎端

（A）显示有两个叶原基的茎端的扫描电镜照片，它们位于顶端分生组织的两侧；（B）同一顶端的切片显示叶原基来自于最外侧的四五层细胞；（C）在茎发育早期叶原基顺序出现的示意图

分枝的时候会产生新的分生组织，但是它们会保持相同的大小。

用遗传学的方法已经找到了保持分生区活性的基因。例如，编码同源区蛋白的 *WUSCHEL* 基因的突变能够使得顶端分生组织转变成非分生组织，从而使幼苗不能长出。相反的，编码细胞信号转导途径的 *CLAVATA* 基因的突变可以使分生区异常增大。这些基因在分生区的不同细胞中表达［图 21-116（A）］。表层的两层细胞，称作 L1、L2 层和最下层的 L3 层一起包含了分生区的所有细胞，它们能够无限地分裂产生植物的各个部分。L1 和 L2 层的分生区细胞表达 Clavata3，它是一个小的信号蛋白，L3 层细胞能够表达 Clavata1（Clavata3 的受体），在表达 Clavata1 的中心区域是表达 Wuschel 基因调控蛋白的细胞。

细胞分裂的特性预示着表达 Wuschel 的细胞本身并不具有分生区的特性，新的 Wuschel 表达细胞分布在 L3 层的分生区，即在 Wuschel 区的上端。然而，Wuschel 表达细胞位于保持分生区机制的核心，它们产生的信号使得在这些细胞上方保持分升组织的特性，激活 *CLAVATA* 基因的表达，使得新的细胞进入 Wuschel 区域开启 Wuschel 的表达。从上面分生区细胞的反馈抑制作用 Clavata 的信号途径作用于下侧的区域从而限制 Wuschel 区的大小，因此也就抑制了分生区的大小［图 21-116（B）］。

植物分生区在许多细节方面和我们这里提到的这些基因外的其他一些基因的关系还不是很清楚。但是，数学模型显示，基于短距离的激活和长距离抑制的反馈环系统可以保持信号中心有确定的大小，即使是在这一中心发生持续的增殖。这一相类似的信号系统被认为在动物的发育过程中也起到保持信号中心的作用。

现在还不清除 Wuschel 表达细胞的信号怎样到达它的临近细胞，一种可能的解释是 Wuschel 蛋白本身通过间连丝这一植物所特有的通路直接从一个细胞到另一个细胞。分生区的其他一些调控蛋白是通过这一途径转运的，从含有相应 mRNA 的细胞转运到不含有相应 mRNA 的邻近细胞。

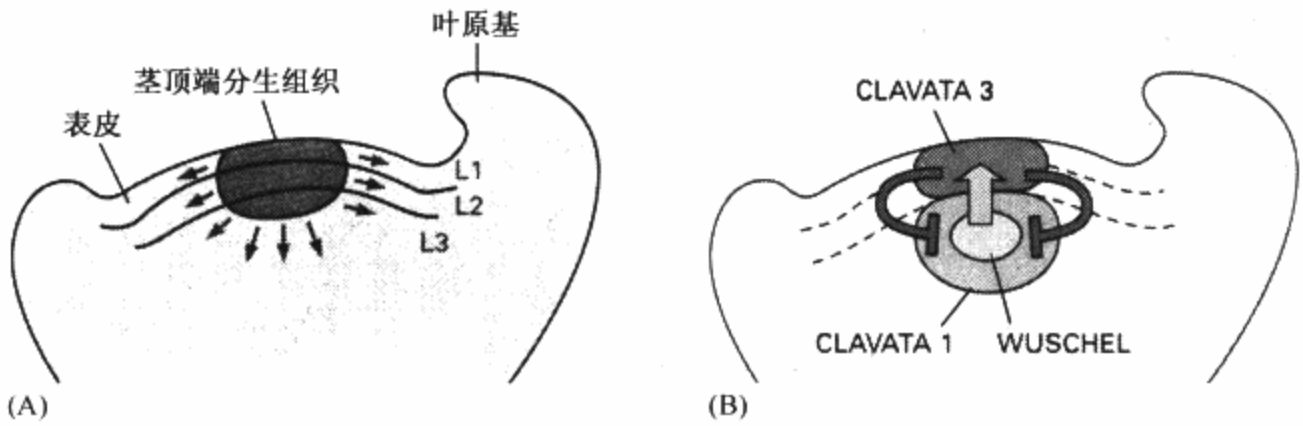


图 21-116　保持茎端分生组织的反馈环

（A）组成茎端分生组织的各层细胞。（B）维持分生区的细胞间交流模式。在 L3 层过量表达 Wuschel 可以增加 L1、L2 层分生区细胞和表达 Clavata 3 的细胞数目；在 L1、L2 层过量表达 Clavata 3 可以使 L3 层 Wuschel 的表达减少，同时减少分生区细胞的数目。Clavata 3 编码一个小的信号蛋白，而 Clavata 1 编码的是它的受体——跨膜的蛋白激酶。Wuschel 在表达 Clavata 1 受体区域的中心部位表达，它编码的是一类基因调控蛋白，据认为分生区的大小是通过表达 Wuschel 细胞产生的短距离信号和 Clavata 3 产生的长距离抑制信号的平衡来控制的

分生区的突变体可以通过改变细胞的行为来改变植物的拓扑结构

当茎将要分枝的时候，新的茎端分生组织就要产生，并且这也依赖于茎端邻近区域的事件。在每一个发育节上，在叶原基和茎的夹角处就形成芽（图 21-117），它包含了来源于顶端分生组织的一群细胞，而且保持了分生的特性。它们具有形成一个新枝的顶端分生组织或者像花结构一样的原基的能力，同时它们也具有像休眠芽一样保持静止的能力。植物的分枝结构就是通过这种选择来调控的。影响这种调控的突变体能使植物结构发生改变，玉米提供了一个很好的例子。

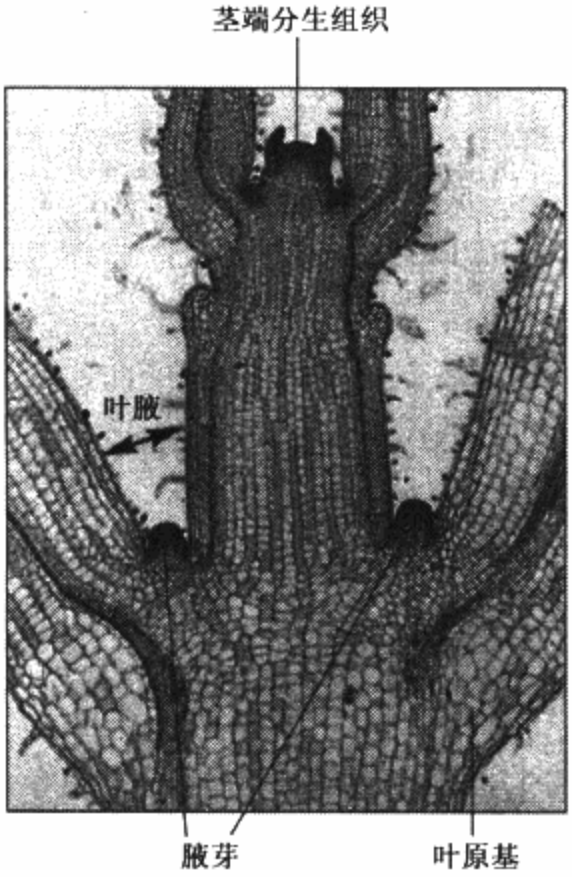


图 21-117　茎端附近区域产生的腋芽

图示的是一种普通的家养锦紫苏的纵切

玉米是人类基因工程最显著的代表之一，土著印第安人在 5000～10 000 年前经历了几个世纪或上千年的时间通过育种得到了它。玉米起源于一种称作墨西哥类蜀黍的杂草，这种杂草具有高度的分枝结构。详细的遗传分析表明，大约有 5 个遗传位点作为突变的位点，与大部分的这种祖先和现代玉米的差异相符合。其中一个位点与一个称作 *teosinte branched-1*（*tb1*）的基因相对应。在 *tb1* 功能缺失的突变体玉米中，通常地长有许多大叶子而且没有分枝的茎转变成了高度分枝的叶状的蜀黍［图 21-118（A）］。突变体中的分枝结构表明在正常位置上形成的休眠芽摆脱了抑制作用，从而形成了枝。正常的玉米中，单个的茎顶端生有一个缨子即雄花，在茎上的一些侧芽发育成了雌花，并且在受精之后形成了人们所食用的玉米棒。在 *tb1* 基因突变的玉米中，这些能够结实的侧芽转变成能够生成缨子的枝。野生型的蜀黍在叶、高度分枝结构方面与 *tb1* 突变的玉米相似，但是和突变体不同的是，在它的许多侧枝上能够生成穗，就像 *tb1* 仍具有活性一样。DNA 分析可以给出这种解释，在墨西哥类蜀黍和正常的玉米中都包含一个功能性的

tbl 基因，它们具有几乎相同的编码序列，但是，在玉米中，该基因的调控序列发生突变从而使它的表达水平升高。因此，在玉米中，该基因在每个腋芽上的表达水平都很高，从而抑制分枝的形成，而在墨西哥类蜀黍的腋芽中的表达水平都比较低，因此形成了许多分枝［图21-118（B)］。

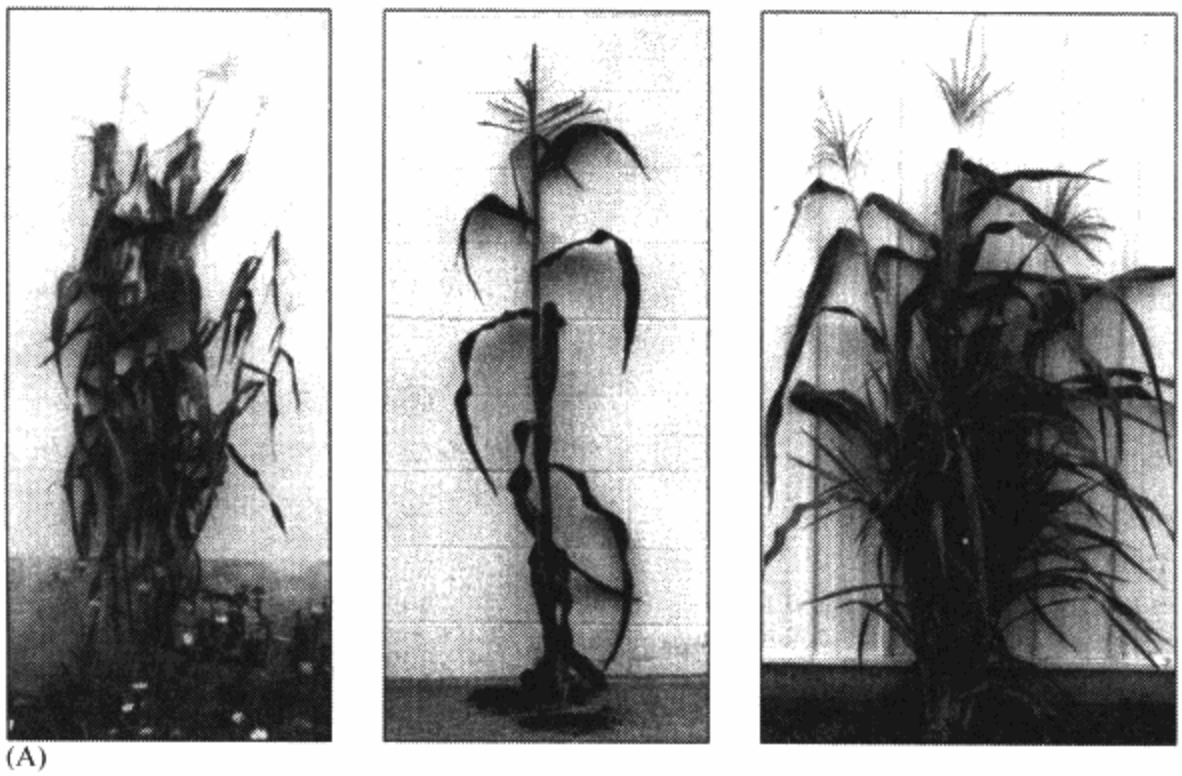


图 21-118　通过突变改变植物的结构：玉米草、玉米和 *tbl* 缺失的玉米的比较

（A）三种植物的照片。（B）玉米草、玉米和 *tbl* 缺失的玉米的结构比较示意图。*tbl* 基因产物是玉米棒发育所必需的，它在 *tbl* 突变体中缺失，而存在于玉米和墨西哥类蜀黍中，但是它们间的不同是在两种植物中基因分别受到调控

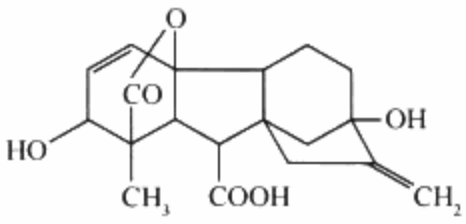
这一例子表明通过改变分生区细胞的简单突变就可以改变植物的结构——这也是许多重要的农作物形成的一个原则。更普遍的 *tbl* 的例子表明，不管是植物或是动物，新的机体结构可以通过改变调控 DNA 的结构来实现，而不用改变编码蛋白质的性质。

长距离的激素信号在植物的各个部分协同调节植物的发育

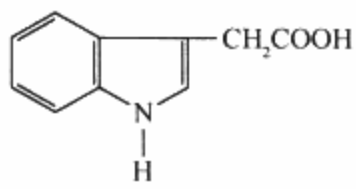
腋芽的命运不仅是由它的基因决定的，而且也是由环境条件决定的。植物的各个部分感

受到不同环境信号并且各自通过改变发育模式来对环境作出应答。但是，植物必须作为一个整体来起作用。这就要求在植物一个部位的发育事件能够影响其他部位的发育事件。因而必然存在长效的信号来协调这种机制。

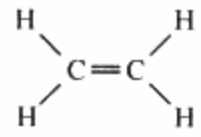
例如，园艺工作者知道，通过去除一个枝条的顶端可以促进侧枝的生长，去除顶端分生组织可以解除对侧生分生组织的抑制，并且使它们产生新的小枝。在这种情况下，来自于顶端分生组织的长距离信号的主要成分已经鉴定出来。它就是生长素，6 种已知的植物生长调节剂之一，**植物生长调节剂**对于植物的发育有显著的影响。另外的 5 种是赤霉素、细胞分裂素、脱落酸、乙烯和油菜素内酯。如图 21-119 所示，它们都是一些能够透过细胞壁的小分子物质。它们在大部分的植物细胞中合成，可以局部地起作用，也可以通过转运到一定的距离起作用。生长素通过细胞间运输的方式从芽的顶端向基部以每小时 1cm 的速度运输。每一种生长调节剂都有多种作用，而且这些作用还受到其他生长调节剂、环境因素和营养条件的调节。因此，生长素单独可以促进根的形成，与赤霉素一起可以促进茎的伸长，与细胞分裂素一起可以抑制侧枝的生长，与乙烯一起可以促进侧根的生长。能够识别这些生长调节剂的受体已经在第 15 章讨论过了。



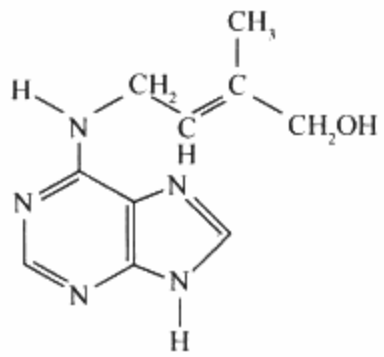
赤霉酸素（GA3）[赤霉素]



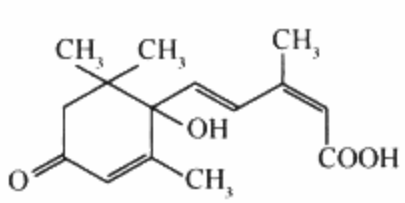
吲哚-3-乙酸（IAA）[生长素]



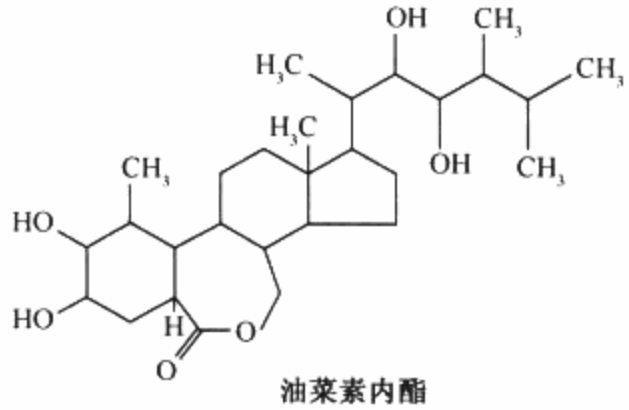
乙烯



玉米素（细胞分裂素）



脱落酸（ABA）



油菜素内酯

图 21-119　植物生长调节剂

图中所示是六种植物生长调节分子。每一种天然存在的代表分子的结构式

同源选择基因特异于花的各个部分

正如我们在关于玉米的讨论中看到的那样，分生组织除了要面对静止和生长的选择外，还要面对其他的一些发育选择。它们也通过环境进行调控，其中最重要的是花的决定（图 21-120）。

从分生生长到花形成的转变是由光驱动的。通过对光合蛋白和隐花色素蛋白对光吸收机制的粗浅了解，植物可以非常灵敏地感受到日光的变化。这是通过在顶端分生组织开启一系列开花控制基因的表达来实现的。通过开启这些基因的表达，顶端分生组织停止了进一步的营养生长，开始了配子的形成。分生区的细胞经历了严格的生长和分化程序，通过对形成叶的普遍机制的修饰，一系列的轮状结构顺序形成——先是花萼，然后花瓣，然后是携带有包含花粉的花药的雄蕊，最内一轮是包含有卵细胞的雌蕊（专题 21-1）。在这一过程结束时，分生区已经消失，但是在它的后代中已经产生了生殖细胞。

这种变形的叶形成的花可以同果蝇的肢节相比。同果蝇中一样，在植物中也可以找到一些同源区的突变体，使机体的一部分转变成另一部分的特性。突变体的表型可以至少分为四类，在这些突变体中，不同的器官发生改变（图 21-121）。第一类的 A 类基因，以拟南芥 *apetala2* 突变体作为例子，有两轮的器官发生改变：花萼转变为雌蕊，花瓣转变为雄蕊。第二类的 B 类基因，以 *apetal3* 为例子，中间两轮花器官发生改变，花瓣转变成花萼，雄蕊转变为雌蕊。第三类 C 基因，以 *agamous* 为例子，两轮最内层的花器官发生改变，雄蕊转变为花瓣，雌蕊消失，并且在雌蕊的位置的中央区细胞形成一个新的花分生组织，从而在第一轮的内部产生另外的一系列非正常的花萼和花瓣，更进一步地在内部又产生了新的一轮。第四类基因，*sepallata* 的突变体，最内层的三轮都转变为花萼。

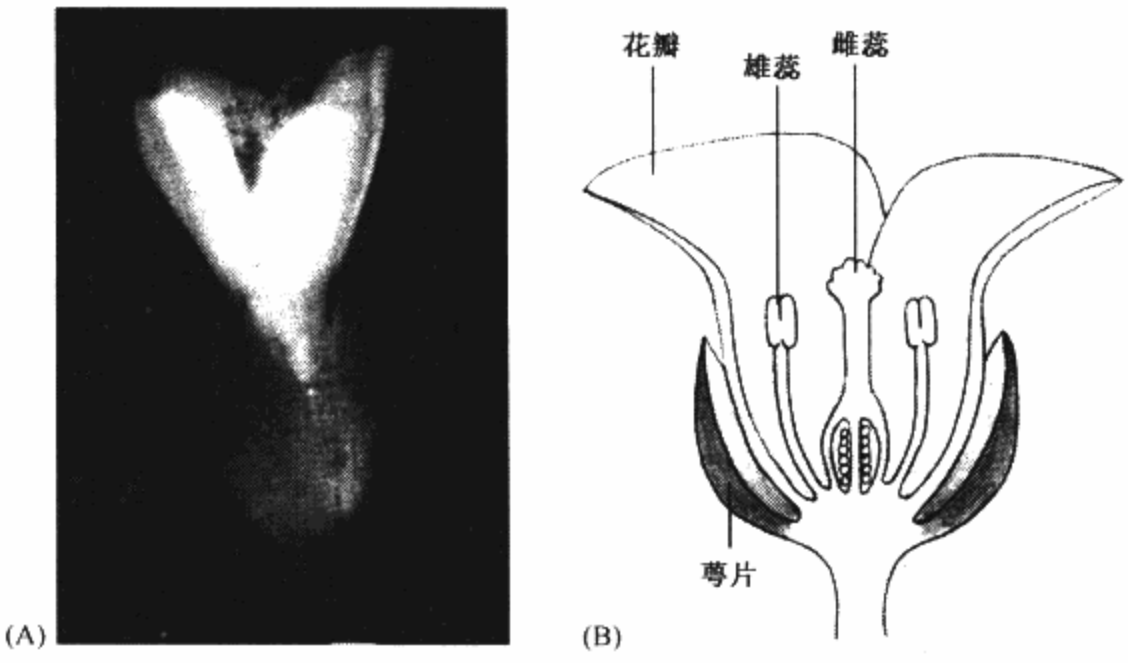


图 21-120　拟南芥花的结构

（A）照片。（B）模式图。（C）横切模式图［（A）经 Leslie Sieburth 许可］

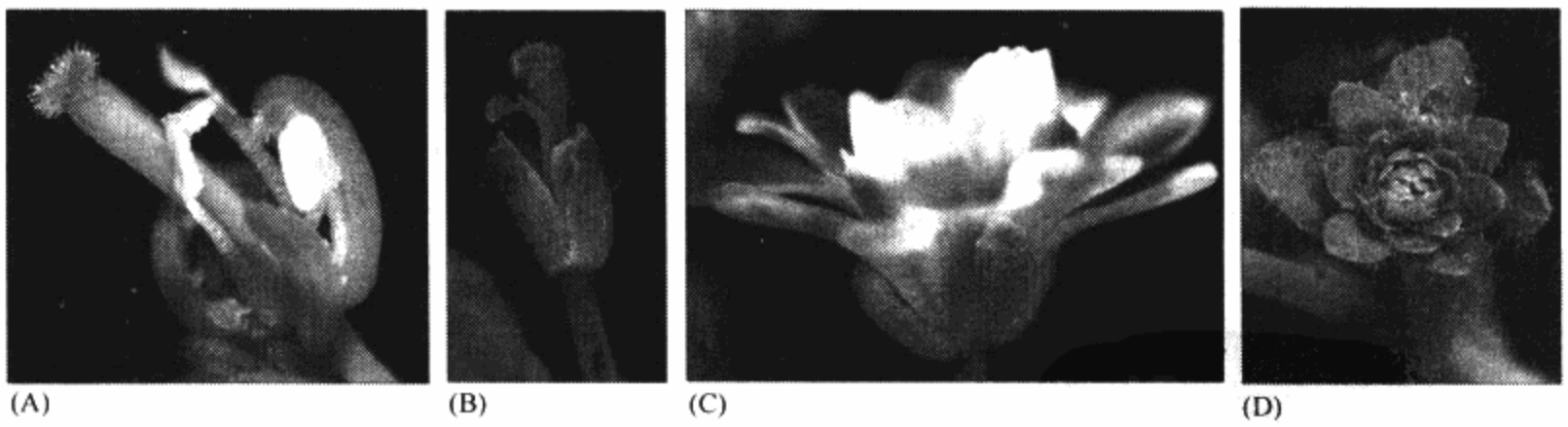


图 21-121　拟南芥花的同源区基因突变体

（A）*apetala2* 突变的花中，花萼转变为雌蕊，花瓣转变为雄蕊。（B）*apetala3* 突变的花中，花瓣转变成花萼，雄蕊转变为雌蕊。（C）*agamous* 突变的花中，雄蕊转变为花瓣，雌蕊转变为花分生组织。（D）在三个功能都缺失的三突变中，所有的花器官都转变成叶［(A)～(C) 经 Leslie Sieburth 许可；(D) 经 Mark Running 许可］

同果蝇的同源区基因一样，这四类同源区基因都编码基因调控蛋白，这些基因在不同的区域表达，确定不同的细胞状态，从而使得花的不同部位具有不同的特性，如图 21-122 所示。这些基因的产物通过形成蛋白质复合体驱动下游基因的表达，在 A、B、C 基因功能都缺失的三突变体中，人们在花的部位发现持续增生的叶［图 21-121 (D)］。相反地，在

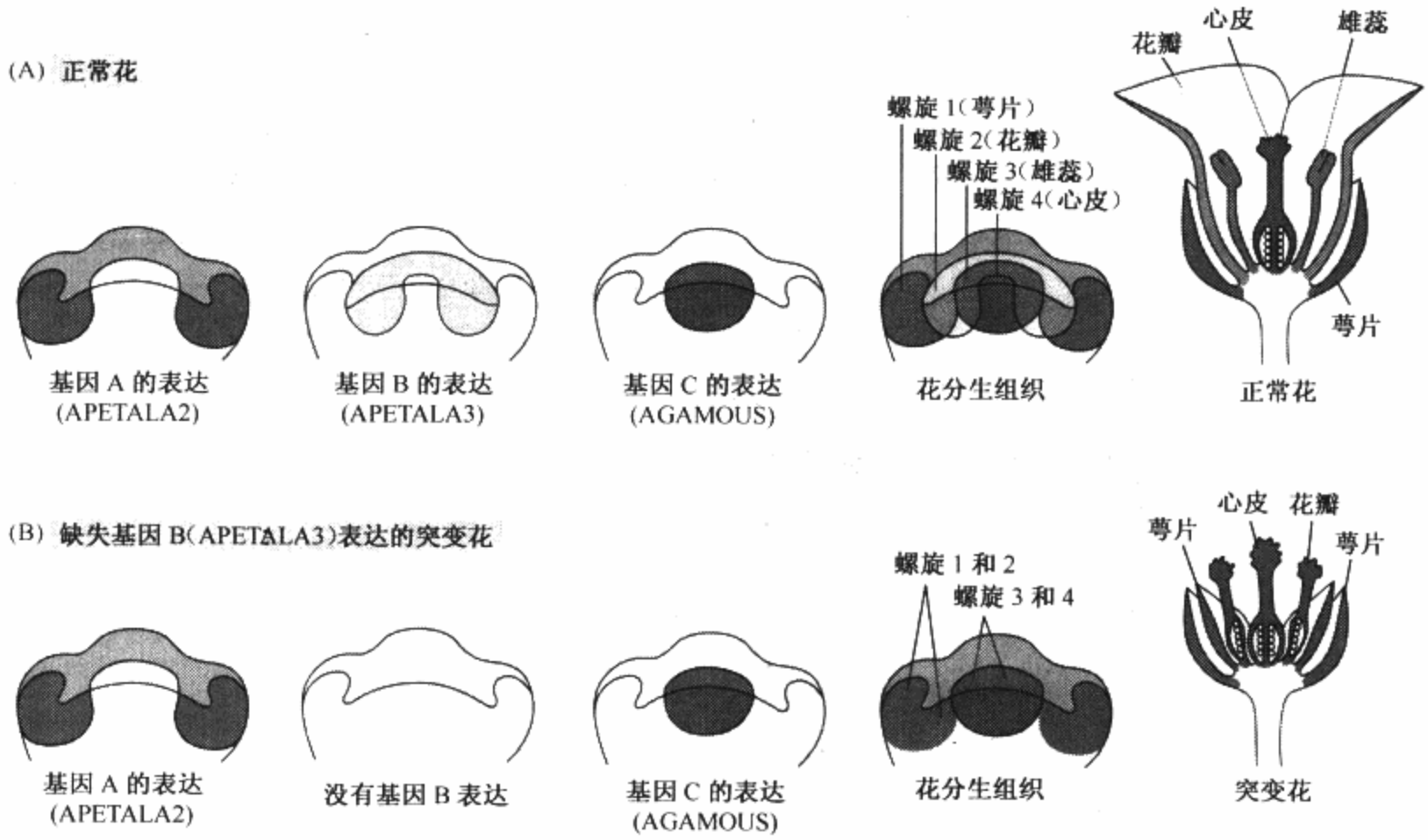


图 21-122　在拟南芥花中同源选择基因的表达

(A) 造成图 21-121 (A) ～ (C) 三个突变体表型的基因的正常表达模式。三个基因都编码基因调控蛋白，花中的阴影部分表明不同的器官由不同的分生组织发育而来，但是并不是表明同源选择基因在这一时期还表达；(B) *apetala3* 基因缺失的突变体的模式图。由于每轮器官的特性是由它们所表达的同源选择区基因所决定的，雌蕊和花萼分别转变为雄蕊和花瓣。A 类基因缺失的结果比较复杂：A 类基因产物的缺失使 C 类基因既在内部两轮表达又在外部两轮表达，使外部的两轮器官分别发育成雌蕊和雄蕊，C 类基因的缺失使中央区不能最终分化形成雌蕊而作为一分生组织持续地生长，产生越来越多的花萼和花瓣

A、B 和 *sepallata* 类基因都表达的转基因植物中，叶子转变成了花萼。因此，叶子代表一种所有的同源区基因都没有表达的“本底水平”，而其他的器官类型是不同基因组合表达的结果。

在其他的植物中也进行了相似的研究，而且也得到了一系列相似的表型和基因，正如在动物中一样，植物也具有保守的同源区系统。基因复制在这些基因的进化过程中起了很大的作用，在花的不同器官的很多基因都具有相似的序列，这些同源区序列不同于同源区机构，而属于另一类基因调控蛋白家族（MADS 家族），这类蛋白质也在酵母和脊椎动物中发现。

显然地，植物和动物对于许多多细胞发育问题有非常相似的解决方案。

小结

和动物的发育一样，开花植物的发育开始于受精卵的分裂形成有极性的胚：胚的顶端部分形成芽，基部形成根，中间部分形成茎。起初，在胚胎的各个部分都发生细胞的分裂。但是，随着胚胎的发育，新细胞否认增加，只限制在称作分生组织的小的区域内。在根端和茎端的顶端分生组织在整个植物生活史中都在活动，从而能够形成新的机体结构。大体上，茎上能够产生一系列重复的结构，每一重复的结构都是由一段茎、叶子和腋芽所组成的。腋芽是一个潜在的分生组织，它能够产生侧枝；环境和长距离的激素信号可以通过调节芽的活性

来调控植物的发育。能够改变侧枝活动的突变对于植物的形态和结构有显著的功能；一个简单的突变可以使玉米和它的野生祖先——墨西哥类蜀黍表现出很大的不同。

拟南芥作为一种模式生物被广泛地应用在遗传学的研究中，并且它也是第一种被完全测序的植物。和在动物中一样，调控植物发育的基因可以通过遗传学的方法来确定，通过遗传工程的方法来检测它们的功能。这些研究已经初步揭示了植物发育的分子机制。每种植物模块的内部组织都是通过在顶端分生组织附近的细胞间相互作用来实现的，分生组织本身通过局部的反馈环来保持。表达基因调节蛋白 Wuschel 的细胞提供正向的刺激，并且依赖于 Clavata 的细胞信号途径的负反馈使分生组织保持一定的大小。

环境因素特别是光能够诱导一些基因的表达，它们能够使顶端分生组织从营养生长向生殖生长转变。花的各个部分——花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊是通过对叶的发育机制的改变形成的，而且各个部分的差异是由同源区基因来进行调控的。

参考文献

一般文献

Carroll SB, Grenier JK & Weatherbee SD (2001) From DNA to Diversity: Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design. Malden, MA: Blackwell Science.

Gilbert SF (2000) Developmental Biology, 6th edn. Sunderland, MA: Sinauer.

Slack JMW (2001) Essential Developmental Biology. Oxford: Blackwell Science.

Wolpert L, Beddington R, Jessell TM & Lawrence P (2002) Principles of Development, 2nd edn. London/Oxford: Current Biology/Oxford University Press.

Universal Mechanisms of Animal Development

Gilbert SF & Raunio AM (eds) (1997) Embryology: Constructing The Organism. Sunderland, MA: Sinauer.

Scott MP (2000) Development: the natural history of genes. *Cell* 100, 27–40.

Spemann H (1938) Embryonic Development and Induction. New Haven: Yale University Press. Reprinted 1988, New York: Garland Publishing.

The Zebrafish Issue (1996) *Development* 123, 1–481. (A genetic screen)

Caenorhabditis elegans: Development From the Perspective of the Individual Cell

Harris WA & Hartenstein V (1991) Neuronal determination without cell division in *Xenopus* embryos. *Neuron* 6, 499–515.

Lin R, Hill RJ & Priess JR (1998) POP-1 and anterior-posterior fate decisions in *C. elegans* embryos. *Cell* 92, 229–239.

Metzstein MM, Stanfield GM & Horvitz HR (1998) Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet.* 14, 410–416.

Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F et al. (2000) Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 408, 86–89.

Drosophila and the Molecular Genetics of Pattern Formation: Genesis of the Body Plan

Bate M & Martinez Arias A (eds) (1993) The Development of *Drosophila melanogaster*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Dearden P & Akam M (1999) Developmental evolution: Axial patterning in insects. *Curr. Biol.* 9, R591–R594.

Lawrence PA (1992) The Making of a Fly: The Genetics of Animal Design. Oxford: Blackwell Scientific.

Nusslein-Volhard C & Wieschaus E (1980) Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 287, 795–801.

Rubin GM, Yandell MD, Wortman JR et al. (2000) Comparative genomics of the eukaryotes. *Science* 287, 2204–2215.

Shulman JM, Benton R & St Johnston D (2000) The *Drosophila* homolog of *C. elegans* PAR-1 organizes the oocyte cytoskeleton and directs oskar mRNA localization to the posterior pole. *Cell* 101, 377–388.

Homeotic Selector Genes and the Patterning of the Anteroposterior Axis

Ferrier DE & Holland PW (2001) Ancient origin of the Hox gene cluster. *Nat. Rev. Genet.* 2, 33–38.

Lewis EB (1978) A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* 276, 565–570.

Maconochie M, Nonchev S, Morrison A & Krumlauf R (1996) Paralogous Hox genes: function and regulation. *Annu. Rev. Genet.* 30, 529–556.

McGinnis W, Garber RL, Wirz J et al. (1984) A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell* 37, 403–408.

Ringrose L & Paro R (2001) Remembering silence. *BioEssays* 23, 566–570.

Organogenesis and the Patterning of Appendages

Capdevila J & Belmonte JCI (2001) Patterning mechanisms controlling vertebrate limb development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 87–132.

Day SJ & Lawrence PA (2000) Measuring dimensions: the regulation of size and shape. *Development* 127, 2977–2987.

Irvine KD & Rauskolb C (2001) Boundaries in development: formation and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 189–214.

Jan YN & Jan LY (2001) Development: asymmetric cell division in the *Drosophila* nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 772–779.

Panganiban G, Irvine SM, Lowe C et al. (1997) The origin and evolution of animal appendages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 5162–5166.

Teleman AA, Strigini M & Cohen SM (2001) Shaping morphogen gradients. *Cell* 105, 559–562.

Cell Movement and the Shaping of the Vertebrate Body

Harland R & Gerhart J (1997) Formation and function of Spemann's Organizer. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 611–667.

Heisenberg CP, Tada M, Rauch GJ et al. (2000) Silberblick/Wnt11 mediates convergent extension movements during zebrafish gastrulation. *Nature* 405, 76–81.

Kalcheim C & Le Douarin NM (1999) The Neural Crest, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press.

Mercola M & Levin M (2001) Left–right asymmetry determination in vertebrates. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 779–132.

Palmeirim I, Henrique D, Ish-Horowicz D & Pourquie O (1997) Avian hairy gene expression identifies a molecular clock linked to vertebrate segmentation and somitogenesis. *Cell* 91, 639–648.

Takeichi M, Nakagawa S, Aono S et al. (2000) Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355, 885–890.

The Mouse

Larsen WJ (2001) Human Embryology, 3rd edn: Churchill Livingstone.

Lu CC, Brennan J & Robertson EJ (2001) From fertilization to gastrulation:

axis formation in the mouse embryo. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11, 384–392.

Metzger RJ & Krasnow MA (1999) Genetic control of branching morphogenesis. *Science* 284, 1635–1639.

Smith AG (2001) Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 435–462.

Weaver M, Dunn NR & Hogan BL (2000) Bmp4 and Fgf10 play opposing roles during lung bud morphogenesis. *Development* 127, 2695–2704.

Neural Development

Bi G & Poo M (2001) Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu. Rev. Neurosci.* 24, 139–166.

Hubel DH & Wiesel TN (1965) Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *J. Neurophysiol.* 28, 1041–1059.

Kandel ER, Schwartz JH & Jessell TM (2000) Principles of Neural Science, 4th edn. New York: McGraw-Hill.

Mueller BK (1999) Growth cone guidance: first steps towards a deeper understanding. *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 351–388.

Sanes DH, Reh TA & Harris WA (2000) Development of the Nervous System. San Diego: Academic Press.

Sanes JR & Lichtman JW (2001) Development: induction, assembly, maturation and maintenance of a postsynaptic apparatus. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 791–805.

Zou Y, Stoeckli E, Chen H & Tessier-Lavigne M (2000) Squeezing axons out of the gray matter: a role for slit and semaphorin proteins from midline and ventral spinal cord. *Cell* 102, 363–375.

Plant Development

Doebley J, Stec A & Hubbard L (1997) The evolution of apical dominance in maize. *Nature* 386, 485–488.

Howell SH (1998) Molecular Genetics of Plant Development. Cambridge: Cambridge University Press.

Jack T (2001) Relearning our ABCs: new twists on an old model. *Trends Plant Sci.* 6, 310–316.

Schoof H, Lenhard M, Haecker A et al. (2000) The stem cell population of Arabidopsis shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes. *Cell* 100, 635–644.

Westhoff P, Jeske H, Jürgens G et al. (1998) Molecular Plant Development From Gene to Plant. Oxford: Oxford University Press.

22 组织学：组织中细胞的生存和死亡

表皮及表皮通过干细胞再生
感觉上皮
呼吸道和消化道
血管和内皮细胞
多能干细胞的更新：血细胞的形成
骨骼肌的发生、调整和再生
成纤维细胞及其转化：结缔组织细胞家族
干细胞工程

细胞最初是以独立生存的个体形式进化的。但和人类关系密切的细胞往往是多细胞群体的特化成员。这些细胞丧失了独立生存的能力，但是获得了行使特殊功能的能力，以满足有机整体生存的特定需要。虽然具有相同的基因组，但这些特化的细胞具有相当可观的多样性：如已经确定了人体内具有超过 200 种的不同的细胞类型。各种不同类型的细胞相互协作形成了各种不同的组织，继而不同组织构成各种器官，行使千变万化的功能。为了掌握各种细胞，仅仅分析它们在培养皿中的状态是远远不够的：我们要清楚它们在生物体内是如何生活、行使功能直至死亡的。

在第 7 章和第 21 章，我们了解了不同的细胞类型是如何从胚胎细胞分化出来的，以及此后它们如何通过自身的记忆和相邻细胞发出的信号来维持自身的特异性。在第 19 章中，我们讨论了多细胞组织的构建机制，即将细胞结合在一起的结构以及支持多细胞组织的细胞外物质。在本章中，我们将考虑脊椎动物成年个体已分化细胞的功能和生活方式：描述细胞是如何共同工作，完成它们各自的使命；新的分化细胞是如何产生的；它们如何生活并死亡；以及在老细胞不断被新细胞更新的情况下，各种组织的结构是如何维持的。

围绕本章的主题，我们列举了一系列的例子。其中有些阐述了重要的基本原则，有些强调了学习的重点，另一些则提出了目前细胞生物学亟待解决的难题。

表皮及表皮通过干细胞再生

多种组织提供了表皮组织存活所需要的基本条件，使其正常行使自身的职能。主要由成纤维细胞分泌的细胞外基质支持框架使表皮具有一定的机械强度；内皮细胞形成的血管网络为表皮提供了养料和氧气，同时带走废物和二氧化碳；此外，血管还为免疫系统细胞抵御感染病源提供了通路：巨噬细胞和树突状细胞吞噬入侵的病原体并且帮助激活淋巴细胞，进而引发各种适应性免疫应答反应（讨论见第 24 章）；神经纤维能够将感觉信息从表皮传递至中枢神经系统，在反向传递信号导致腺体分泌或平滑肌的收缩。

图 22-1 显示了表皮组织的结构以及其他组织如何支持表皮的正常工作。皮肤主要有两部分组成：上皮细胞组成的表皮在最外层，其下是结缔组织。结缔组织由富含胶原的真皮（用于制作皮革制品）和其下的皮下脂肪层或皮下组织构成。和其他器官一样，血管和神经分布

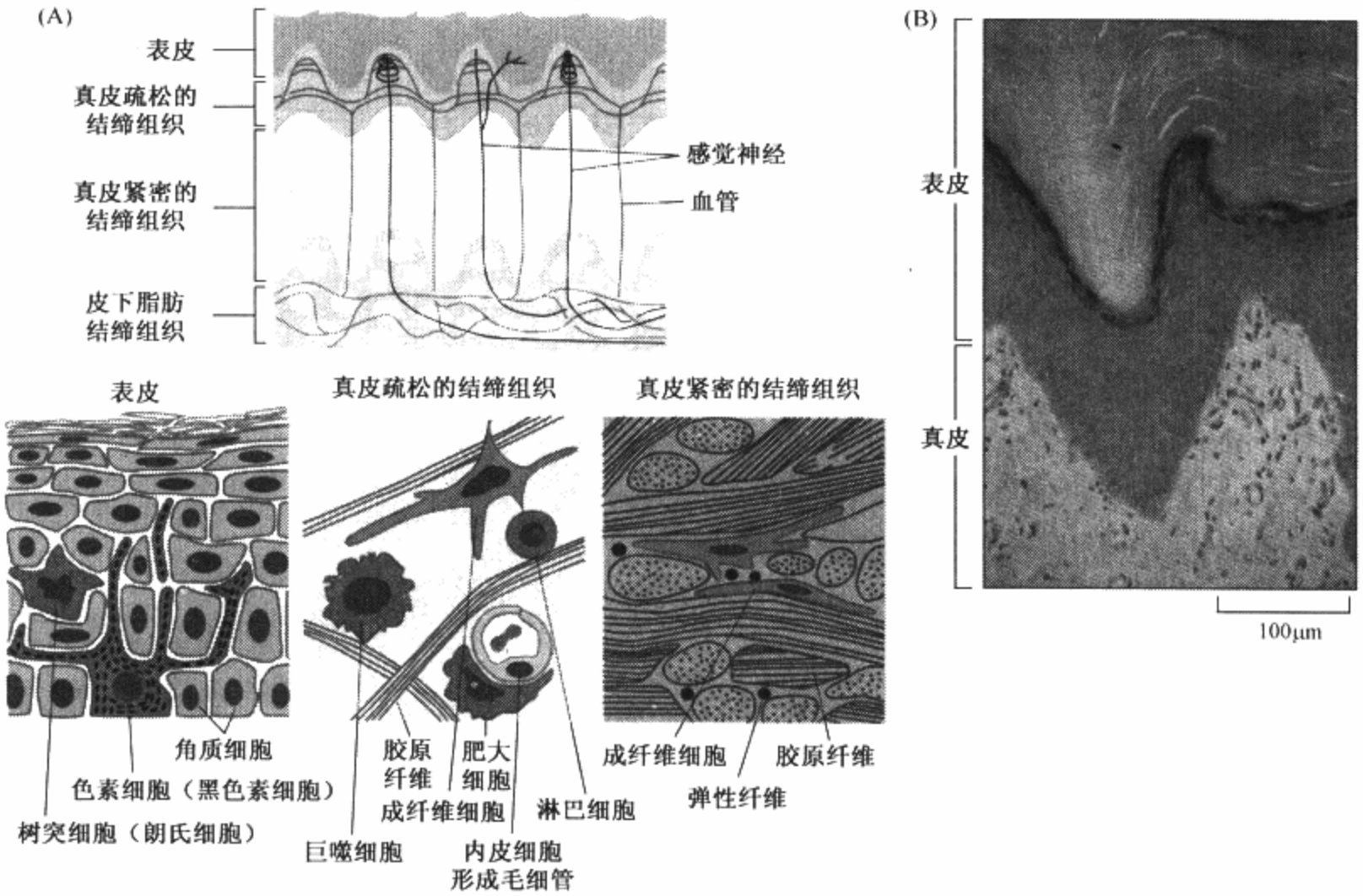


图 22-1　哺乳动物皮肤

（A）模式图显示皮肤的细胞结构。（B）人脚底横切面的小噬细胞，苏木精、曙红染色。皮肤可被看成由两种主要组织组成的大型器官：表皮和其下由真皮和皮下组织构成的结缔组织。每种组织都由多种细胞组成，真皮和皮下组织中富含血管和神经，一些神经纤维延伸至表皮

在皮肤的结缔组织中，行使上述提到的各种功能。

虽然从体积来看表皮不是皮肤的主要组织，但是它是皮肤专有的组织。结构简单的表皮组织在成年个体身上仍然不断地更新，就像处于胚胎时期一样，因而表皮组织是介绍可再生组织的最好范例。

上皮细胞构成一道多层的防水屏障

比起体内的其他组织，表皮组织更直接、更频繁的接触外界环境中对机体有害的物质。因此修复和更新对它来说是必需的。

表皮是复层细胞上皮，其主要成员是角质化细胞（其命名原因是在分化形成该种细胞过程中胞内会特异性地合成一种名为角质素的中间丝蛋白，增加表皮强度）（图 22-2）。各层角质化细胞的形态各不相同，最内层和其下的基底膜相接触的细胞称为基底细胞，通常只有这一层细胞进行分裂。基底细胞之上是多层棘细胞（图 22-3），它比基底细胞略大，细胞膜上的大量桥粒（细胞内角蛋白丝集和成束后在细胞膜上的锚定点）在光学显微镜下看起来好像是细胞表面长满了小棘刺（棘细胞名称由来）。棘细胞的外层是扁平深色的颗粒细胞层（图 22-2），这一层细胞相互紧密连接形成了一道防水屏障，履行表皮最重要的一种功能。由于基因缺陷而不能形成这道屏障的实验鼠，即使皮肤的其他各项功能正常，仍会在刚出生时因为体内液体丢失迅速导致死亡。

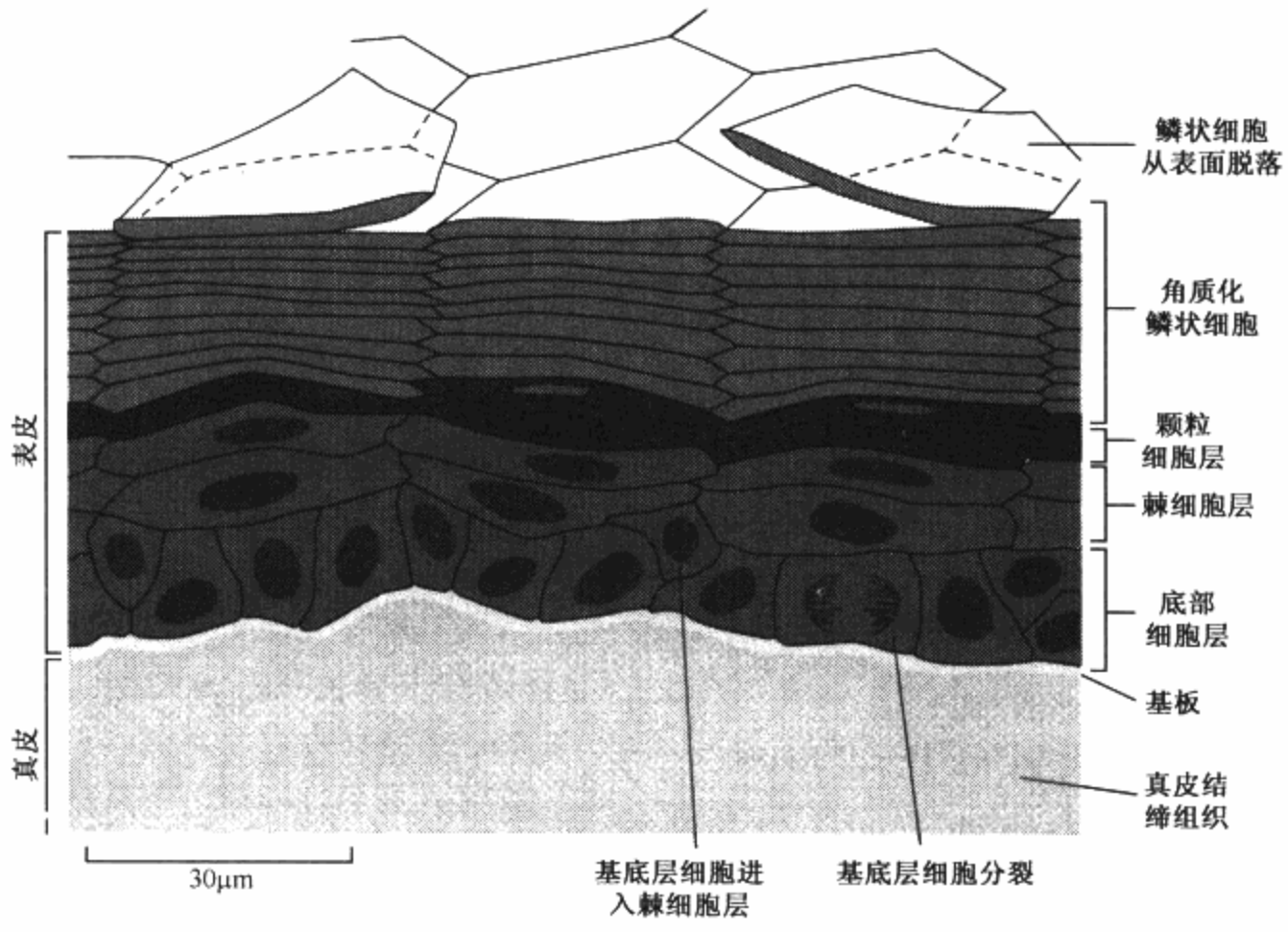


图 22-2　表皮的多层结构（以鼠为例）

将角质化鳞状细胞放入含有氢氧化钠的溶液中泡涨，可以显示其结构。此处显示的高度有序排列并彼此啮合的细胞柱仅存在于表皮较薄的位置。在人的皮肤中，鳞状细胞层通常则要高出许多倍并且较不规则。并且皮肤中较厚的有丝分裂细胞不仅出现在基底层，还出现在其上的几层细胞中。除要角质化的细胞外，表皮深层含有少量特性不同的细胞，如图 21-1所示，包括来源于骨髓的树突状细胞，又称朗格汉氏细胞；发源于神经脊的黑素细胞（色素细胞）和表皮神经末梢相连接的梅克尔细胞

颗粒层这道限制水及溶质运动的屏障，在代谢活跃的内层表皮和由那些已丢失细胞器的死亡细胞构成的外层表皮之间形成了一道分界线。这些外层细胞呈扁平甚至鳞片状，其内充满了稠密的角质素。鳞状细胞和颗粒细胞的细胞膜被一层很薄的（12nm）、强韧的、呈交连状的蛋白质加固，其中包括一种叫做外皮蛋白的细胞质蛋白。鳞状细胞一般扁平致密，因而在光学显微镜下很难分清它们的边界。但是当将它们浸在氢氧化钠溶液中（或是热水浴中）时，鳞状细胞会略微膨胀，此时在光学显微镜下可见其轮廓（图 22-2）。

正在分化的表皮细胞在其成熟过程中合成一系列不同的角质素

描述了皮肤的静态结构之后，让我们着眼于动态过程，看看表皮是如何被基底层产生的新细胞不断更新的。首先，基底细胞不断分裂，其中一部分成为新的基底层成员，另一些则离开基底层进入棘细胞层，后者完成了表皮细胞外移运动的第一步。到达棘细胞层的细胞通过部分激活凋亡机制和降解过程逐渐丢失细胞核和细胞器，并且在这一过程中，细胞逐渐变为角质化的鳞状细胞，进入角质层。最终角质层的鳞状细胞从皮肤表面脱落（形成室内粉尘的主要成分）。一个表皮细胞从在基底层产生到从皮肤表面脱落大约需要一个月的时间，具体取决于身体的不同部位。

通过分析表皮的薄切片或是胶带反复粘贴剥落下来的连续的细胞层，可以研究各层上皮细胞分子结构的转换。例如，经过提纯和鉴定表皮中大量存在的角质素，发现它由一个庞大

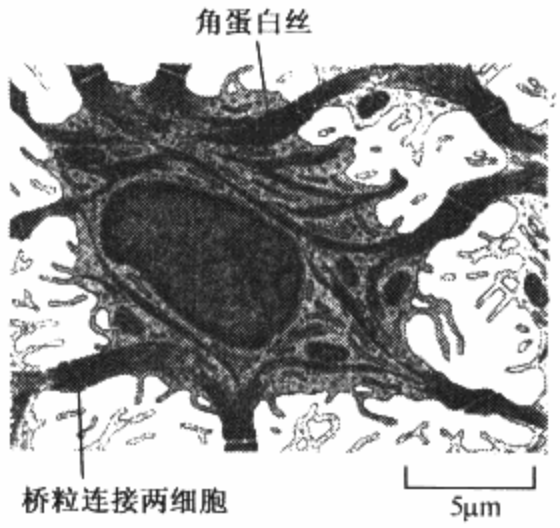


图 22-3　棘细胞

这张来自表皮截面电镜照片的图片显示成熟的角蛋白丝横贯细胞质并插入桥粒连接，桥粒连接棘细胞（红色）和其邻接细胞。营养物质和水可以自由扩散通过棘细胞组成的表皮代谢活跃层的细胞间隙。但在更靠体表的颗粒细胞层有一道不透水的屏障。该屏障是由颗粒细胞分泌的封闭性物质形成（摘自 R. V. Krstić, Ultrastructure of the Mammalian Cell: an Atlas. Berlin: Springer-Verlag, 1979）

的同源基因家族编码，因而具有多种类型（讨论见第 16 章）。此外，DNA 转录后的可变 RNA 加工也进一步增加了角质素的多样性。当基底层产生的新的角质化细胞逐渐转化为最外层的鳞片状细胞时（图 22-3），胞内的角质素也从一种转变为另一种。同时随着终末细胞分化过程（前体细胞获得自身的最终属性并往往停止分裂的过程）的发生，表皮细胞开始合成其他特征性的蛋白质，如外皮蛋白。实际上每个表皮细胞的命运在基底层就已经决定了，因而整个终末细胞分化过程从那里就开始发生了。

表皮由基底层的干细胞更新

在人的一生中表皮外层将会被更新几千次。因而在基底层必须有一种保持在未分化状态的细胞，它们不断分裂，并将开始分化的子细胞移除出基底层。这些分化的细胞将最终在皮肤表脱落。整个过程得以维持的必要条件是基底层细胞自身能够更新，所以基底层细胞产生的后代中既有和母细胞一样保持在未分化状态的细胞，也有分化的细胞。具有这种特性的母细胞被称作**干细胞**。干细胞在多种组织中都发挥着重要的作用，因此我们对它下一个更明确的定义。

干细胞的性质定义如下：

1. 自身未达终末分化（即细胞没有到达分化途径的终点）。

2. 可以不受限制地分裂（至少在动物的寿命年限之内）。

3. 分裂产生的子细胞可能是未分化的干细胞或是最后可进入终末分化的细胞（图 22-4）。

虽然干细胞必须具有分裂能力，但它们的分裂速度并不一定很快，事实上，干细胞通常以相当慢的速度分裂。此外，由于很多组织都需要不断更替自身不具分裂能力的分化细胞，因此它们各自拥有不同类型的干细胞来产生具有组织特异性的终末分化细胞，如表皮的表皮干细胞、肠上皮的肠干细胞、血液中的造血干细胞等。每一种干细胞系统都为研究工作提出了相同的问题：究竟是什么因素决定干细胞分裂或是停止于休眠状态？什么决定了干细胞分裂产生的子细胞分化或是成为另一个干细胞？是否存在可以产生不同分化类型细胞的干细胞或者究竟是什么决定了干细胞今后的分化途径？

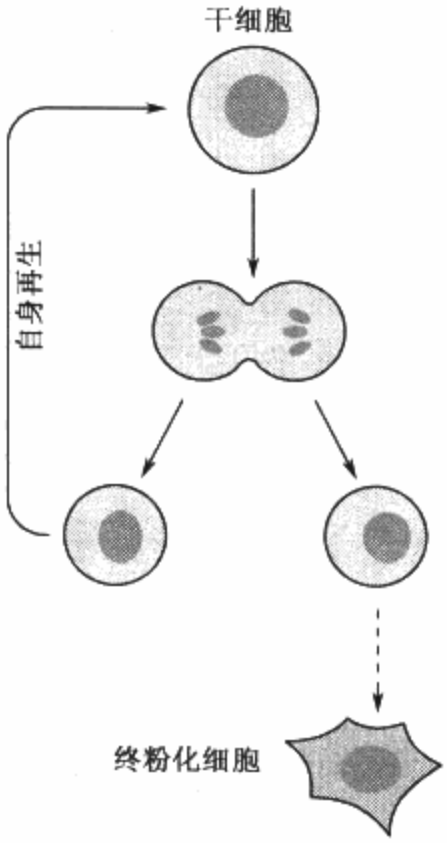


图 22-4　干细胞的定义

干细胞分裂形成的每一个子细胞或者仍停留在干细胞状态或走向终末分化。在很多种情况下，选择分化的子细胞会在终末分化完成之前再进行几次细胞分裂

干细胞产生的两种子细胞并不一定总是不相同

在稳定状态，如果要想维持干细胞的总数，每一子代就都必须有 50%的细胞成为干细胞。这以条件可以通过两种途径实现：不均一的环境或是不对称的分裂（图 22-5）。在前一种机制中，一个干细胞分裂产生两个很相似的子细胞，它们今后的命运由各

自所处的环境所决定，因而即便所有同代子细胞中会有 50%成为新的干细胞，但是同一母细胞产生的两个子细胞可能具有相同的命运——都是干细胞或分化细胞。而另一种机制则完全不同，它认为干细胞的分裂是严格的不对称的，即其产生的两个子细胞中，一个完全秉承了母细胞的干细胞特性，另一个则获得了成为分化细胞的各种因子。对于后一种机制来说，现存干细胞的数目永远不会增加，因而任何干细胞的损失都是不可弥补的。

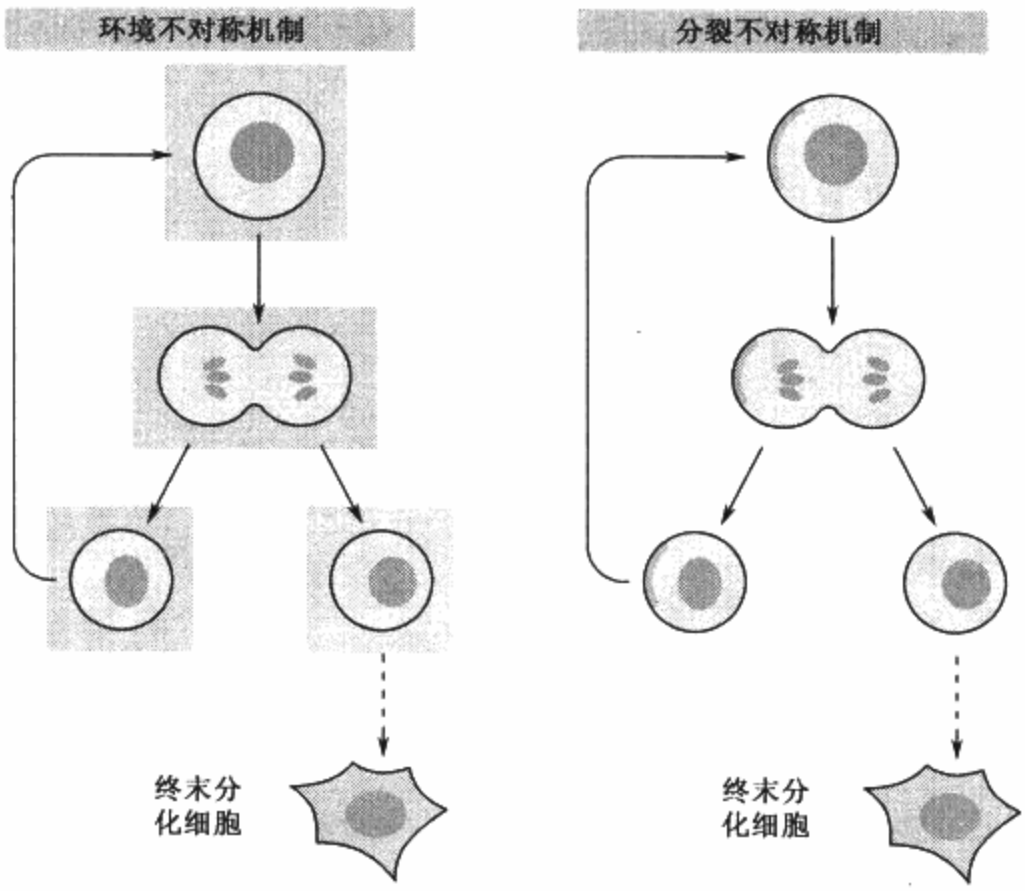


图 22-5　干细胞产生不同命运子细胞的两种方法

在环境不对称机制中，干细胞产生的子细胞最初是相似的，环境因素的影响引导它们向不同的方向发展。环境因素在图中由细胞周围的彩色阴影表示。通过这种机制，干细胞的数量可以增减以占据基底层适合的位置。在分裂不对称机制中，干细胞自身内部不对称，因而其子细胞在分化产生时就已经被赋予了不同的特性

事实上，如果一小块表皮遭到严重损毁，周边的上皮细胞就会迁移到皮损处并且增殖直至完全覆盖裸露的真皮。表皮自我修复的过程说明有额外的干细胞产生以补缺失，这要求前已存在的干细胞分裂产生两个干细胞后代。通过这种对称分裂的方式，干细胞可以调节自身的总数以适应各种需要。

如上的种种实验观察表明表皮干细胞的性质可能是由于和基膜接触而得以维持的。细胞一旦脱离基膜，将会引起终末分化的发生，反之，持续的接触则维持了干细胞的潜能。这种假设在一定程度上可能是正确的，但并不完全，这在下文即将提到。

基底层包含干细胞和短暂扩充细胞

从未受损的表皮分离出的基底层细胞可以在培养皿中增殖，产生新的基底层细胞和终末分化细胞。但即使都是看来未分化的基底层培养细胞，它们的增殖能力彼此间也有很大的差别。逐个挑出这些细胞进行单独培养以检测它们建立一个新的细胞集落（或克隆）的能力，结果显示：一些细胞完全丧失了分裂的能力，一些细胞只分裂了几代就停止了增殖，但仍有一些细胞可以分裂足够多次以形成一个大的集落。这种增殖的潜能和整联蛋白 β1 亚基的表达直接相关（图 19-64）。在完好无损的人类表皮基底层中可以找到高表达这种亚基分子的细胞

簇，这些细胞就被认为是干细胞（图 22-6）。

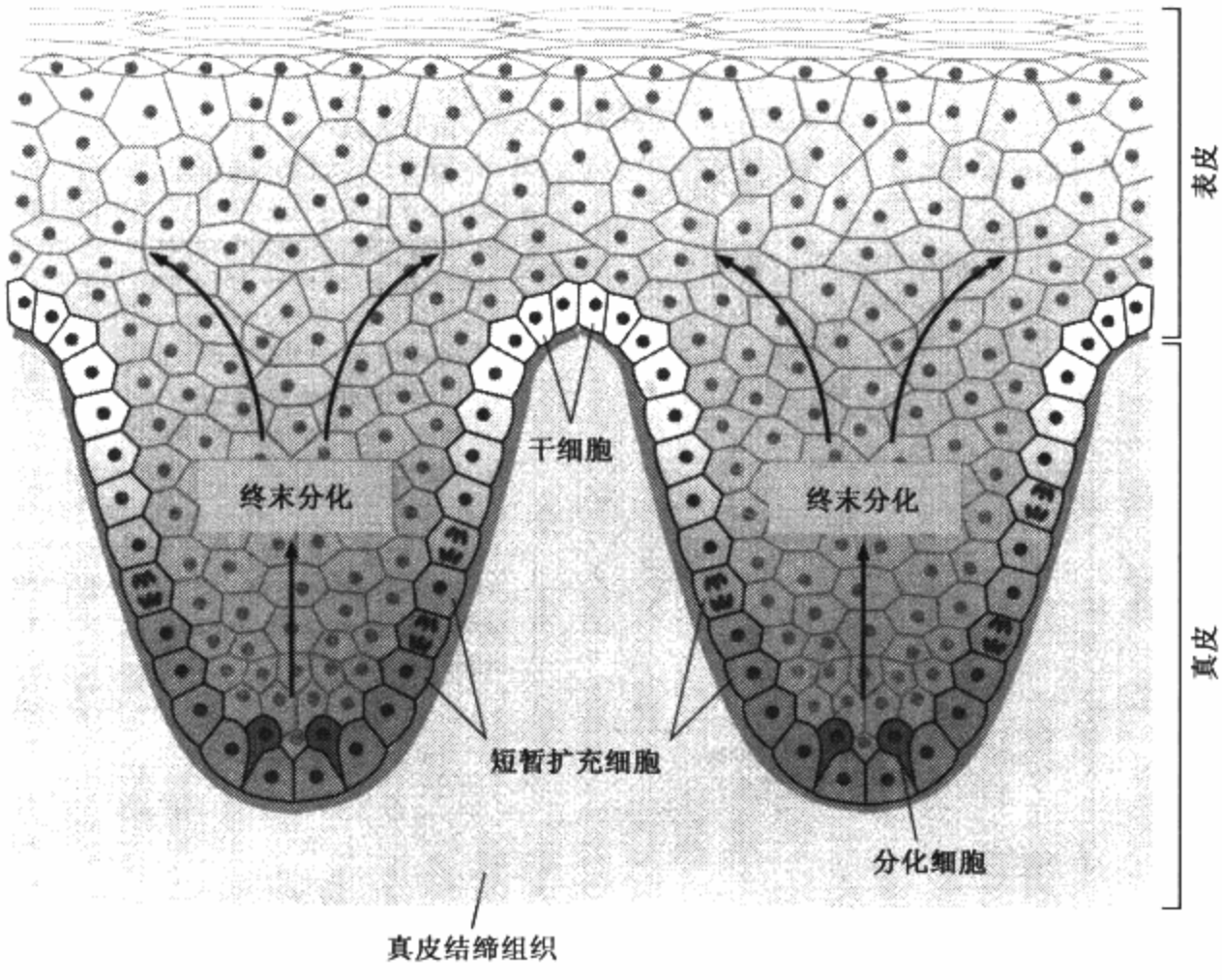


图 22-6　人表皮中干细胞的分布，表皮细胞产生的模式

模拟图基于标本绘制，标本中干细胞的位置由 β1-整联蛋白的染色确定；分化细胞则由角蛋白（角质化细胞分化的标志性分子）染色确定；正在分裂的细胞由 BrdU（一种和分裂 S 期细胞结合的胸腺嘧啶相似物）标记。干细胞似乎集中于靠近真皮乳头尖端的位置。它们极少分裂，侧向分裂游走产生短暂扩充细胞占据可插入的区域，短暂扩充细胞分裂频繁，但只分裂有限次。在所有分裂周期都完成后，细胞开始分化并脱离基底层。表皮各区域干细胞和短暂扩充细胞的精确分布都有所不同（改自 S. Lowell et al.，*Curr. Biol.* 10：491～500，2000）

β1 亚基表达水平较低的基底层细胞也具有分裂的能力（实际上它们分裂得更加频繁）但其次数非常有限。当这些细胞不能再进行分裂时，它们就会离开基底层，同时开始分化。因而这种细胞叫做**短暂扩充细胞（transit amplifying cell）**——“短暂”是因为它们处于从干细胞向分化细胞过渡的阶段，“扩充”是因为作为一个干细胞的子细胞，短暂扩充细胞的分裂可产生大量的分化细胞后代，起到了数量放大的作用（图 22-7）。有一些基底层细胞和短暂扩充细胞群混杂生活在基底层中，虽然它们也靠一个很细的柄和基膜相连，但是已经停止分裂，进一步分析其胞内表达的角质素表明这些细胞已经开始分化。因此，和基膜相接处并不是决定基底层细胞命运的充分条件。

这并不是说细胞的命运和是否接触基膜或其他类似基质无关。如果不让被培养的基底层细胞和培养皿底接触而贴壁，而是进行悬浮培养，则它们将停止分裂而开始分化。因此尽管仅此条件还远远不够，为了维持表皮干细胞的特性，附着于基膜或是其他细胞外基质上仍是必需的。此外，这一先决条件还可防止干细胞群的无限增长，如果有过多的干细胞产生，由于不能和基膜接触，它们将最终丢失干细胞的特性。一旦这种规则被打破，将会导致不断生长的肿瘤甚至癌症。

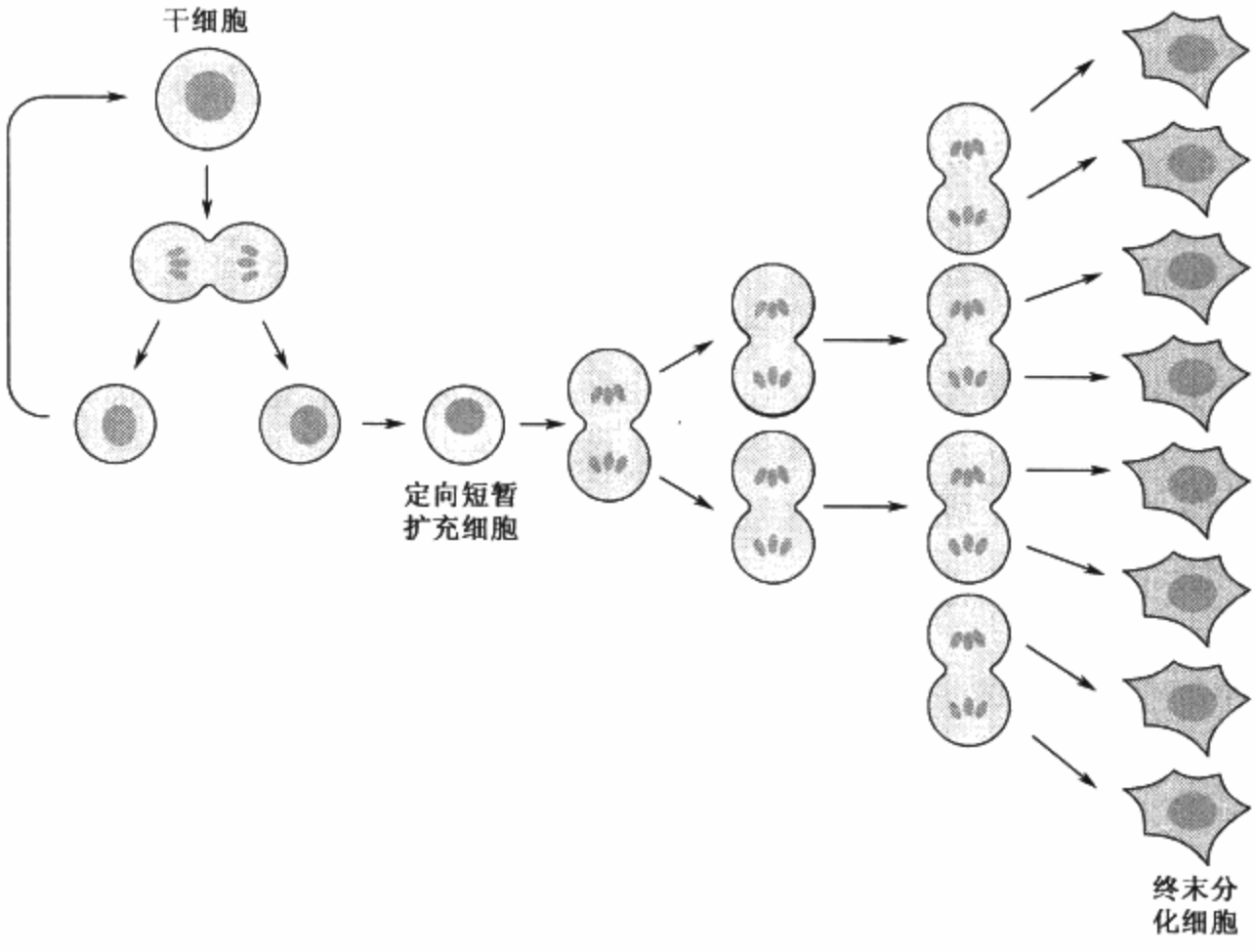


图 22-7　短暂扩充细胞

很多组织的干细胞极少分裂，但能产生短暂扩充细胞——经过一系列有限的快速分裂最终会走向分化的子细胞。图中，以这种方式分裂的每个干细胞最终产生 8 个终末分化后代

表皮的更新受到许多相互影响的信号控制

从表面上看，表皮的细胞更新似乎是一个简单过程，但事实并非如此。为了适应不同的情况，其中的很多环节都受到调控，这包括：干细胞分裂的速率；干细胞后代仍为干细胞的概率；短暂扩充细胞分裂的次数；细胞离开基底层的时间点，完成整个分化过程所用的时间以及从皮肤表面脱落的时间点。正是这些环节的控制使表皮在经受长期的磨损时变厚或结茧，在受伤时自我修复。此外，在某些特殊部位具有独特亚型干细胞的表皮还需要更多的控制机制来调节该处的正常运转，形成毛囊的表皮即是如此。

每一个控制点都很重要，因此它们受到大量分子信号的调节以维持自身功能正常。这其中大多数细胞通信机制都已在第 15 章中提及，包括表皮细胞间的信号通信及表皮和真皮细胞间的信号通信。EGF、FGF、Wnt、Hedgehog、Notch、BMP/TGFβ 及整联蛋白通路都有涉及（我们将看到大多数组织都是如此）。例如，Hedgehog 或 Wnt 通路中某些成分的突变可以导致上皮癌的发生。Hedgehog、Notch、BMP 和 Wnt 通路中成分的错误表达将干扰毛发的形成，阻止毛发生长或使它们长在错误的地方。

目前，对表皮中各种信号机制独特功能的研究初有进展：研究发现 Wnt 通路的激活似乎有助于干细胞性质的维持，并且阻止干细胞向短暂扩充细胞的转化。而 Notch 信号似乎起到了相反的效果——阻碍干细胞特性的维持。修复表皮损伤时，TGFβ 在对真皮发出信号的通路中起了重要的作用，促进富含胶原的疤痕组织的形成。表皮整联蛋白则不仅仅是细胞特征的标记，还是细胞命运的调节器。因此，若使转基因鼠表皮上层表达在正常情况下仅在基底层表达的整联蛋白时，这些鼠出现了类似于人类牛皮癣的病症：基底层细胞增殖速度大大提

高，表皮增厚，离开基底层的细胞在完全角质化之前，仅用一周的时间就从皮肤表面脱落。

乳腺经历发育和退化的重复循环

除上述介绍的表皮各层角质化细胞以外，体表的某些特定区域还具有从胚性表皮发育来的其他类型的细胞。特别是汗液、眼泪、唾液、乳汁等分泌物都是由散在于表皮深层腺体中的细胞产生，而这些腺体又是表皮向内生长的结果。这些特定区域的表皮结构的功能和更新方式和角质化的区域有很大的差异。

乳腺是最大最显著的分泌器官，是哺乳动物的标志性特征，在很多方面都发挥着重要的作用：它不仅仅是哺育婴儿和吸引异性的器官，还是乳制品业的基础和几种常见癌症的发病处。乳房组织很好地揭示了成年个体如何继续进行发育过程，也是展示了细胞凋亡如何导致发育逆转为衰老。

当婴儿出生时，母乳须即刻开始生产；到婴儿断奶时，母乳则停止生产。成年个体处于“休眠状态”的乳腺是由埋藏在脂肪结缔组织中呈分支结构的小管构成的。上皮细胞沿小管排列，其中包括乳房干细胞亚群（关于这种干细胞的精确位置仍然存在争议）。雌性个体在怀孕阶段就开始产生一些激素，它们使小管细胞数量扩增 10～20 倍，这仅仅是生产乳汁的第一步。此后，管道的末端部生长并且分支，形成膨大的、内涵分泌细胞的小槽，即乳池（图 22-8）。婴儿出生后，母亲的体内开始产生传递很多种不同的激素，只有当这些激素的混

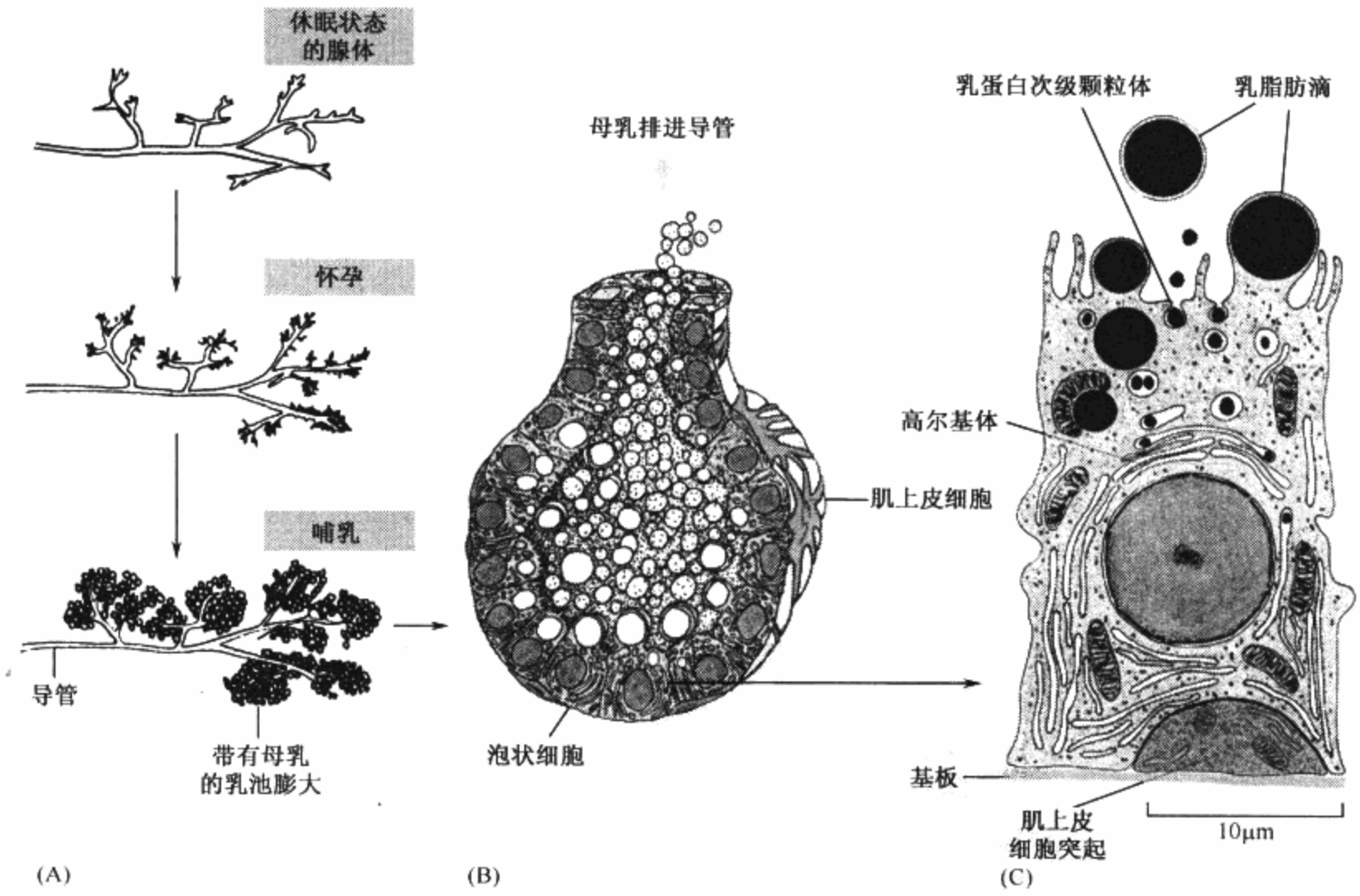


图 22-8　乳腺

（A）孕期和哺乳期来源于乳腺小管乳池的生长。此处仅显示部分乳腺。处于休眠状态的乳腺含有少量静息的腺体组织，埋置于大量脂肪结缔组织中。怀孕期间，乳腺组织大量增殖，同时消耗脂肪结缔组织，腺体的分泌部向产生乳池的方向发育。（B）被一组有收缩性的肌上皮细胞包围的乳池［图 22-40（E）］。（C）一种乳池泌乳细胞可生产乳蛋白质和乳脂肪。蛋白质可以通过正常的胞吐方式分泌，而脂肪则以被细胞膜包裹的脂滴形式离开细胞［（B）摘自 R. Krstić, Die Gewebe des Menschen und der Säugetiere. Berlin: Springer-Verlag, 1978；（C）摘自 D. W. Fawcett, A Textbook of Histology, 12th edn, New York: Chapman and Hall, 1994］

合物有效刺激乳池中的分泌细胞时，后者才开始分泌乳汁。当婴儿的吸吮时，这种刺激可以引起母亲下丘脑细胞释放催产素，后者沿血液传播并集中作用于肌上皮细胞。肌上皮细胞和乳头的分泌细胞一样，由同一种上皮细胞前体发育形成，它具有蜘蛛腿一般细长的突起以包围乳池。当肌上皮细胞收受到催产素作用时，它将母乳从乳池中喷射进入小管。因此，乳汁从乳头的泌出也是受到激素调节的。

所以当婴儿断奶时，由于不再受到吮吸的刺激，乳房内分泌细胞开始凋亡，大多数乳池消失。巨噬细胞迅速清除死亡的细胞，乳腺重新回到休眠的状态。和泌乳期的逐渐开始不同，泌乳的停止是一个突然事件。它似乎不是由激素机制诱导发生的，而是由乳汁的积累导致的。如果乳汁不被疏导而在某一乳腺小管内积聚并造成堵塞，那么和该小管相连乳池内的分泌细胞将成批凋亡，这种凋亡是由很多因子综合导致的，其中包括 TGFβ3，后者将在泌乳受阻时大量积累（图 22-9）。而此时乳腺的其他部分仍然正常存活及行使功能。

生长中的乳腺，其细胞分裂不仅受到激素的调节，还受到在上皮细胞之间及在上皮细胞和其附着生长的结缔组织（基质）之间传递的信号的影响。前述的所有在表皮细胞更新中发挥重要控制作用的信号分子，在乳腺的发育过程中也起到了重要的控制作用。这其中，整联蛋白传递的信号使具有决定性的作用。如果把刺激整联蛋白信号产生的基底膜除去，原本附着其上的上皮细胞将不再应答激素信号。这些相互影响的控制系统中一旦产生差错，可能会为几种常见癌症的发生埋下隐患，其中的相互关系是值得我们深入研究更好了解的。

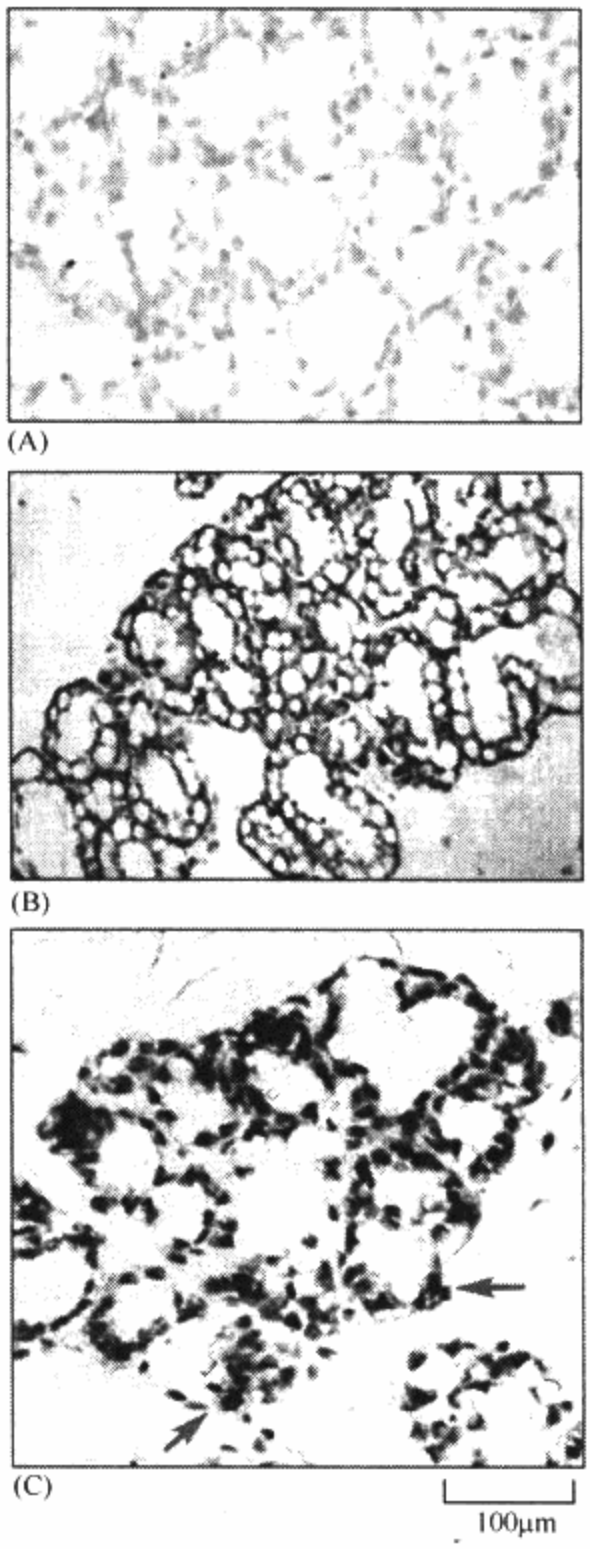


图 22-9　哺乳停止后泌乳细胞的死亡

（A）以正常方式哺育幼鼠的母鼠的泌乳乳腺的部分截面。（B）9h 未哺乳的母鼠相应部分的截面。（A）和（B）中的样品都由抗 TGFβ3 的抗体染色（棕色）。（C）乳腺小管被封 3 天后的相似区域，染色显示细胞凋亡（棕色）。在乳液产生但不能通过哺乳导出的区域，TGFβ3 被诱导产生。此分子和其他信号分子共同作用，引起细胞凋亡和小管的退化（摘自 A. V. Nguyen and J. W. Pollard, *Development* 127：3107～3118，2000. ©The company of Biologists）

小结

皮肤由强韧的结缔组织，即真皮和覆盖其上的复层防水表皮组成。表皮由干细胞不断更新，人表皮的更新周期大约是一个月。从定义上说，干细胞是一类未达终末分化、具有分裂能力、可产生分化细胞后代和干细胞后代的细胞。表皮干细胞在表皮的基底层，附着于基膜上。其产生的可分化细胞后代首先在基底层快速分裂几次，然后停止分裂向皮肤表面迁移，并在此过程中逐渐分化，其胞内表达的角质素也不断从一种转变为另一种，直至细胞核退化，成为最外层的死亡角质化细胞并最终从皮肤表面脱落。

干细胞后代的命运一部分由子细胞是否和基膜接触决定，一部分由相邻细胞分泌的多种信号控制。这种控制机制使得在修复过程中，一个干

细胞可以分裂产生两个干细胞后代；也可以根据需要调节基底层细胞的分裂速度。和表皮相连接的腺体，如乳腺，具有自己的干细胞和自身独特的被其他条件控制的细胞更新模式。乳房中流通扩散的激素会刺激细胞增殖、分化、产生乳汁；吮吸的停止会导致乳汁积存、TGFβ3 的浓度升高，最终引起泌乳细胞凋亡。

感觉上皮

通过覆盖于体表的另一类特殊上皮组织，我们可以感知来自外部世界的气味、声音和图像。从早期胚胎来看，鼻、耳、眼及整个中枢神经系统中的感觉组织都是从将会形成表皮的胚胎细胞层（讨论见第 21 章）（外胚层）起源的。这些用于感觉的结构有几个共同的基本特征，各自的发育却由相关的遗传系统控制（讨论见第 21 章）。此外，虽然感觉上皮保留有上皮组织的结构，但和普通表皮及从它发育来的腺体还是有很大的差别。

鼻、耳、眼都是复杂的器官，它们利用十分精巧的结构从外部世界收集信号。经过传递、过滤和集中，这些信号最终到达感觉上皮，引起神经系统的兴奋。虽然在每种感觉器官中，和其他附属结构相比感觉上皮相对较小，但它们是最重要的部分。因而不论是在脊椎动物之间的进化还是在从无脊椎动物到脊椎动物的进化过程中，感觉上皮都是最保守的进化部分之一。

在每种感觉上皮内都由充当换能器的感觉细胞，它们将外部世界的各种信号转变为可被神经系统识别解释的电信号形式。鼻中的换能器是嗅觉神经元；耳中是听毛细胞；眼中是光感受器。所有这些细胞或是神经元，或是神经元的相似体，它们的顶端都有一个特殊的结构来探测外部刺激，然后将其转换为膜电势。而它们的底端则和一些神经元形成突触，后者将感觉信息传递给大脑中的指定区域。

嗅觉神经元不断地被更新

鼻中的嗅上皮内［图 22-10（A）］有一组上皮细胞分化为**嗅觉神经元**。这些细胞的自由表面上具有被修饰过的静止纤毛（图 15-43），内含气味感受器蛋白，其轴突从细胞的基底端延伸至大脑［图 22-10（B）］。这些神经元周围的支持细胞纵跨嗅上皮，固定了神经元并将之彼此分开，其特性和中枢神经系统中的神经胶质细胞十分相似。感觉表面必须保证潮湿，和裸露表面相连腺体内细胞分泌的液体就为感觉表面提供了这样一个保护层。但即使在这种保护之下，每个嗅觉神经元也只能存活 1～2 个月。然后表皮基底细胞，产生神经元的干细胞，将会分裂以替代缺失的嗅觉神经元。

正如在第 15 章中所讨论的，每一个嗅觉神经元很可能只表达基因组中几百个气味感受器基因的一个，这决定了细胞接收并应答哪种气味的刺激。但不管是哪种气味，每个嗅觉神经元的应答方式都是一样的：它们会通过轴突将一连串动作电位信号传至大脑。各个嗅觉神经元感觉的差异性只有当其轴突将信息传递至大脑中用于感知某些气味的特殊中继站时才能体现出来。这些中继站被称为神经纤维球，位于大脑两侧的两个嗅球内。鼠体内每个嗅球中大约有 1800 个神经纤维球。虽然表达同种气味受体的嗅觉神经元散布在嗅上皮内，但是它们的轴突都聚集于同一神经纤维球上［图 22-10（C）］。当新的嗅觉神经元产生以取代死亡的老细胞时，它们必须将自己的轴突连接到正确的神经纤维球上。因此，有人认为气味感受器蛋白可能有第二种功能：帮助引导新轴突的生长端穿过特定的路径到达嗅球内正确的神经纤维球。如果没有导向系统持续的发挥功能，个体就会出现玫瑰香，一段时间闻起来像柠檬，另一段时间闻起来像烂鱼的嗅觉混乱症状。

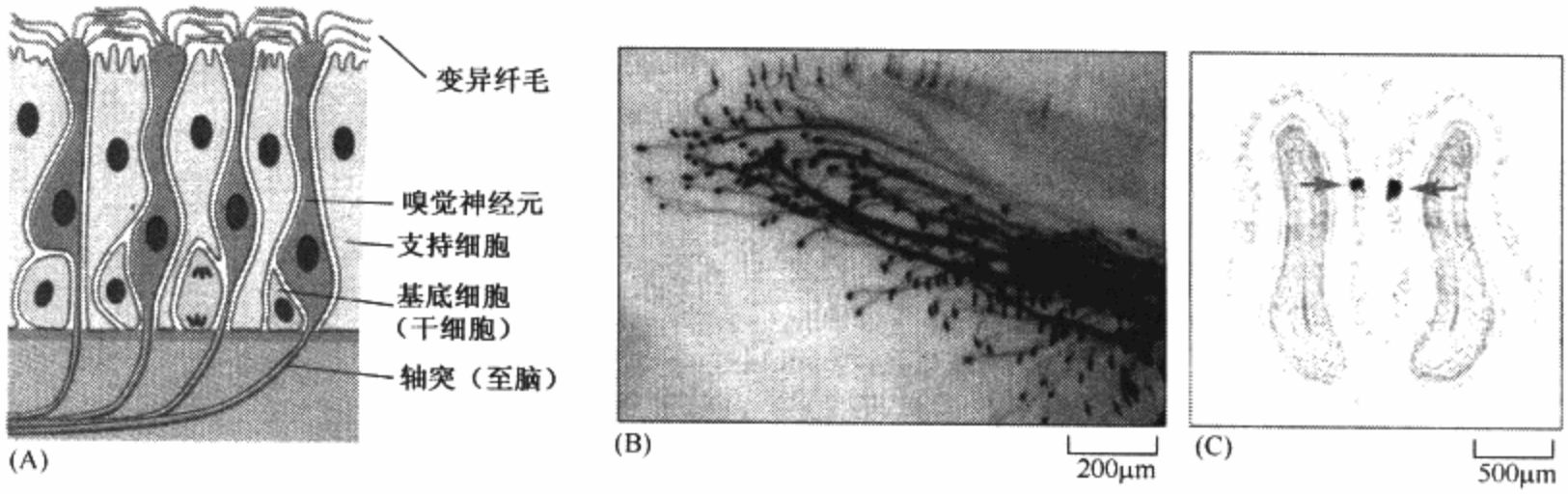


图 22-10　嗅上皮和嗅觉神经元

（A）嗅上皮由支持细胞、基底细胞和嗅觉神经元组成。基底细胞是产生嗅觉神经元的干细胞。6～8 个变异纤毛从嗅觉神经元的顶端伸出，其上具有气味感受器。（B）照片显示：一只基因修饰鼠鼻部嗅觉神经元。该鼠编码 LacZ 的基因被插入到气味感受器的位置，因此所有本应正常表达此种感受器的细胞会在感受器处额外表达 LacZ 酶。LacZ 可通过其催化的酶反应的蓝色产物显现出来。被标记了的嗅觉神经元的细胞体（深蓝色）分散在嗅上皮上起轴突（浅蓝色）延伸至脑（在图外右侧）。（C）左右嗅球的横切，LacZ 染色显示。所有表达相同嗅觉感受器的嗅觉神经元的轴突汇聚至同一对神经纤维球（红色箭头），后者对称生长于左右脑的左右嗅球中。其余的神经纤维球（未染色）则从表达其他气味感受器的嗅觉神经元处接受信号［（B）和（C）摘自 P. Mombaerts et al.，*Cell* 87：675～686，1996. ©Elsevier］

听毛细胞的终生持续使用

负责听觉的感觉上皮是身体所有组织中最精密的结构（图 22-11）。其感觉细胞，即**听毛细胞**，被由支持细胞形成的坚硬结构固定并且被由大量细胞外基质（耳蜗覆膜）形成的柯蒂氏器所覆盖。听毛细胞将机械刺激转化为电信号。每个听毛细胞表面都伸出许多硬杆状物，其内充满了交联的肌动蛋白丝。这些硬杆状的微绒毛被称作静纤毛，它们按高度顺序梯度排列，形成好似管风琴那样的列阵。根据听毛细胞在耳中的位置和其接收的声音频率，静纤毛列阵的空间指向被极为精确的确定。当声波造成柯蒂氏器振动并引起静纤毛束的倾斜时（图 22-12），静纤毛膜上的机械门控离子通道将打开或关闭（图 22-13）。携带电荷的离子流

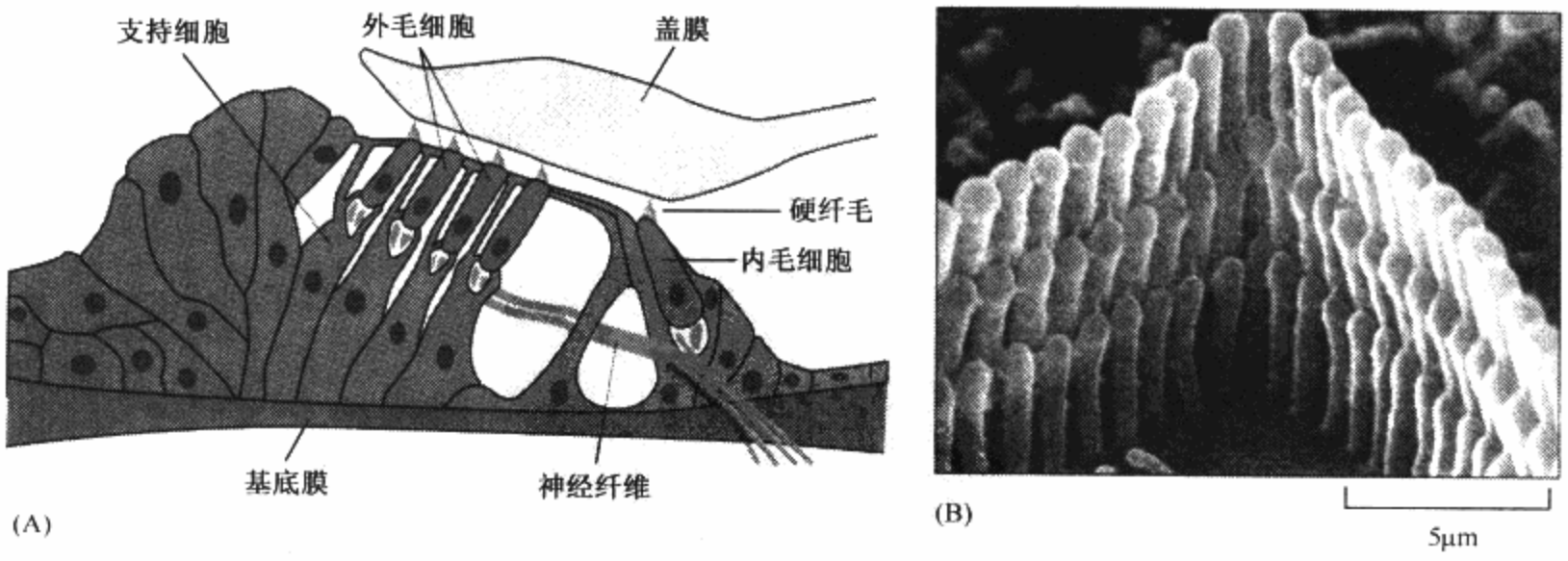


图 22-11　听毛细胞

（A）哺乳动物内耳的听觉装置（柯蒂氏器）的横切模式图显示听毛细胞附着在有支持细胞构成的精巧上皮结构上，并且被大量的细胞外基质（盖膜）覆盖。具有毛细胞的上皮在基底膜（薄且有弹性的组织薄膜，在两个充满液体的通道间形成长且狭窄的分隔）上。声音引起通道压力的改变和基底膜的上下振动。（B）这张扫描电镜照片显示一个外毛细胞尖端表面，其具有典型的管状微绒毛（硬纤毛）列阵。内毛细胞是主要的听感受器，在每个人耳中大约有 3500 个。外毛细胞是内毛细胞的 4 倍以上，被认为构成部分反馈机制对传送至内毛细胞的机械刺激进行调节［（B）摘自 J. D. Pickles，*Prog. Neurobiol*，24：1～42，1985，©Elsevier］

进入听毛细胞，改变膜电势，从而引起细胞基底端突触神经递质的释放，将信号传递给相邻的神经末梢突触。

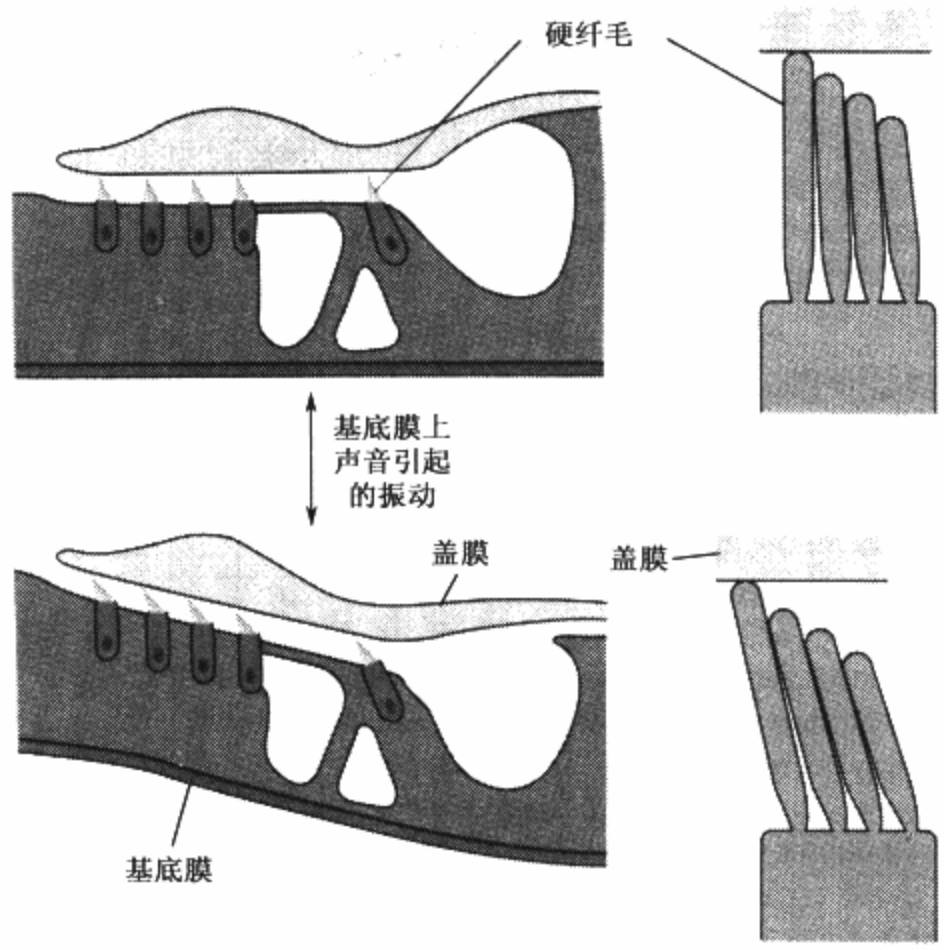


图 22-12　覆盖的细胞外基质（盖膜）的相对运动如何使哺乳动物内耳柯蒂氏器听毛细胞的硬纤毛倾斜

硬纤毛呈硬干状，其底部绞合而其顶尖部集成一束

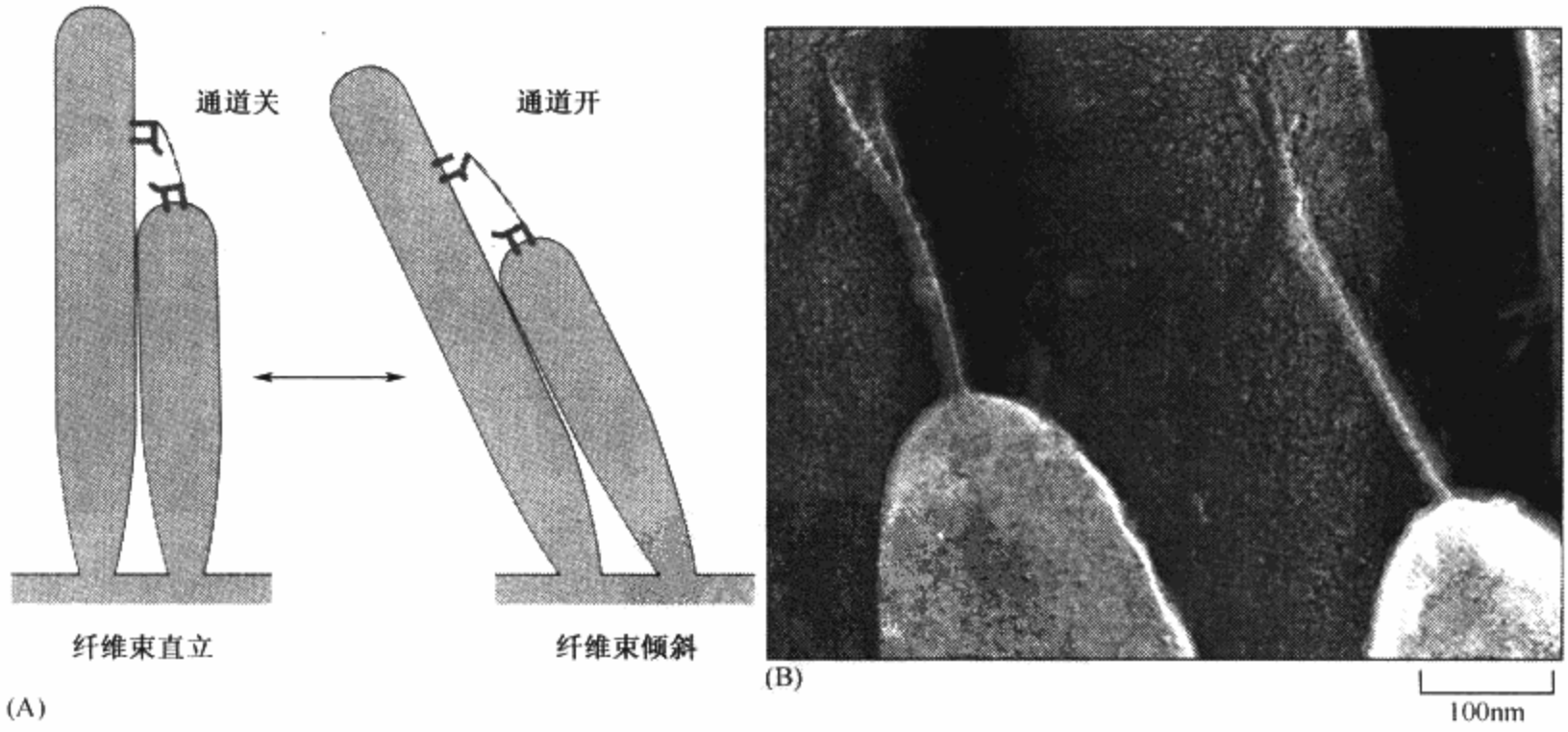


图 22-13　感觉毛细胞如何工作

（A）细胞行使换能器的功能，将柯蒂氏器感受到的声音振动转变为电信号，进而引起硬纤毛的倾斜。一条细纤丝几乎垂直竖立在每个短硬纤毛的顶端，并且连接在与它相邻的较高的硬纤毛的上。硬纤毛束的倾斜拉紧纤丝，进而硬纤毛上的机械门控离子通道。通道的开启使得带正电荷的离子流入，毛细胞去极化。（B）两根硬纤毛顶端延伸出的纤丝的电镜照片。通过超精细机械测量，并用一个柔韧的玻璃探针推拨一个听毛细胞使得硬纤毛束倾斜同时记录该细胞的电信号，这样在机械门控通道顺应机械力被拉开时，就可能检测到硬纤毛束的额外弹性。通过这种方法可以确定打开一个假想通道所需的力约为 2×10^{-13}N，当通道打开时，门大约摆动了 4nm。这种机制极其敏感：估计能听到的最微弱声音能将纤丝平均拉长 0.04nm，这还不到一个氢原子直径的一半［（B）摘自 B. Kachar et al.，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97：13336～13341，2000. © National Academy of Sciences］

在人和其他哺乳动物体内，同一听毛细胞不像嗅觉神经元那样被不断更新，而是被终生使用的。因此，如果听毛细胞因为疾病、毒素或过强的噪音遭到损坏，将造成永久的听力丧失。但是在其他脊椎动物体内，当听毛细胞损坏时，会促进支持细胞像干细胞那样分裂，产生可分化为听毛细胞的子细胞，以取代缺失的听毛细胞。如果我们可以更好了解这一再生过程的调节机制，也许有一天诱导人类听上皮的自我修复将成为现实。

绝大多数永久细胞进行部分更新：视网膜感光细胞

视网膜是最复杂的感觉上皮。它由若干层细胞组成，而且排布方式似乎是错误的。从眼球向大脑传递信号的神经元叫做视网膜神经节，其位置靠近外界环境，以便通过晶状体聚焦的光可以通过它到达感光细胞。根据**感光细胞**的形状，可以分为视杆细胞和视锥细胞两类。它们的感光末端部分（外节）埋于色素上皮中（图 22-14）。视杆细胞和视锥细胞含有不同的视紫红质——视蛋白和视色素视黄醛构成的光敏感复合体。在低光强的情况下，视杆细胞对光更为敏感；而视锥细胞有三种类型，各自拥有不同的视蛋白，造成不同的光谱响应，因而可以分辨颜色和很小的细节。

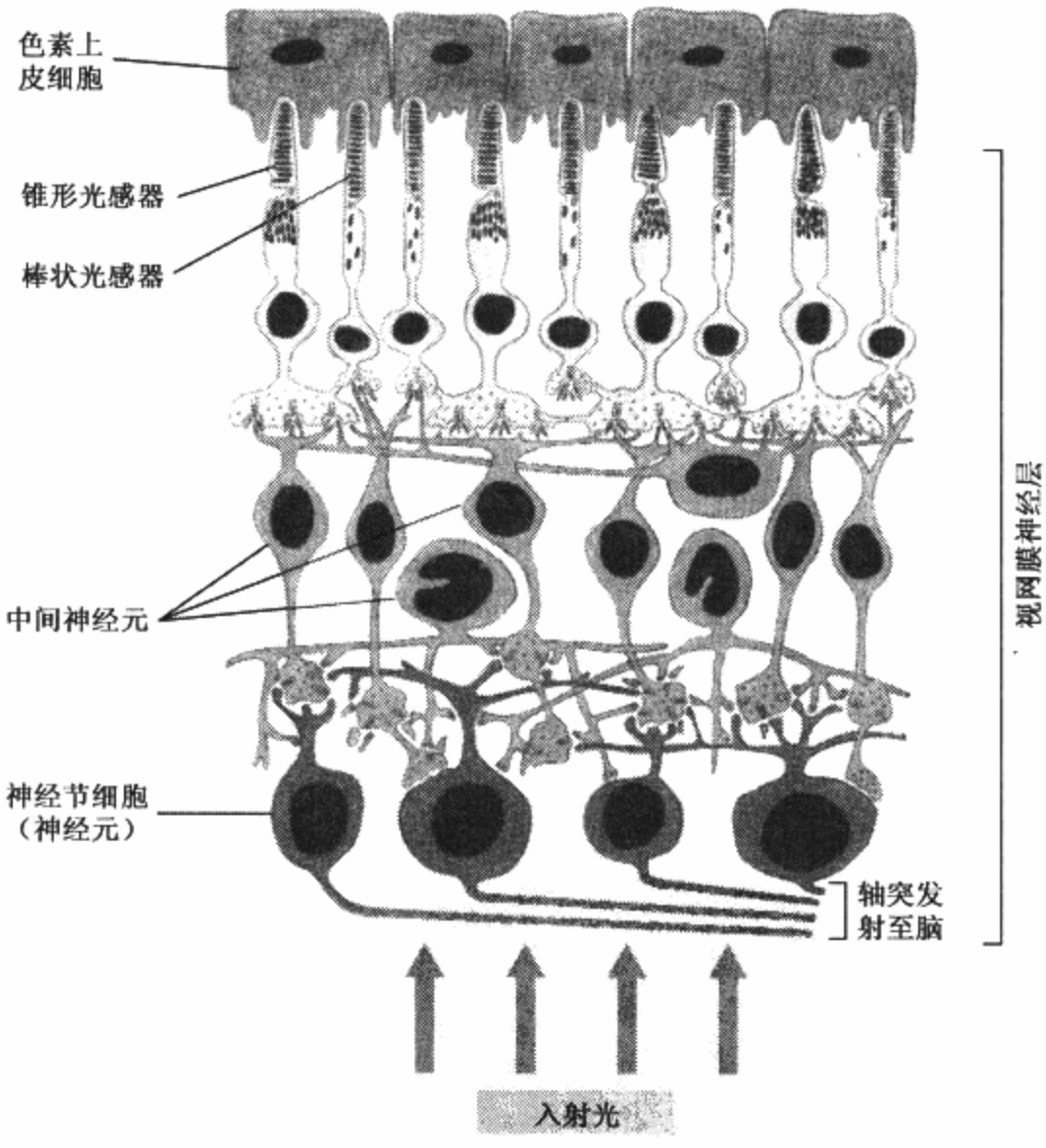
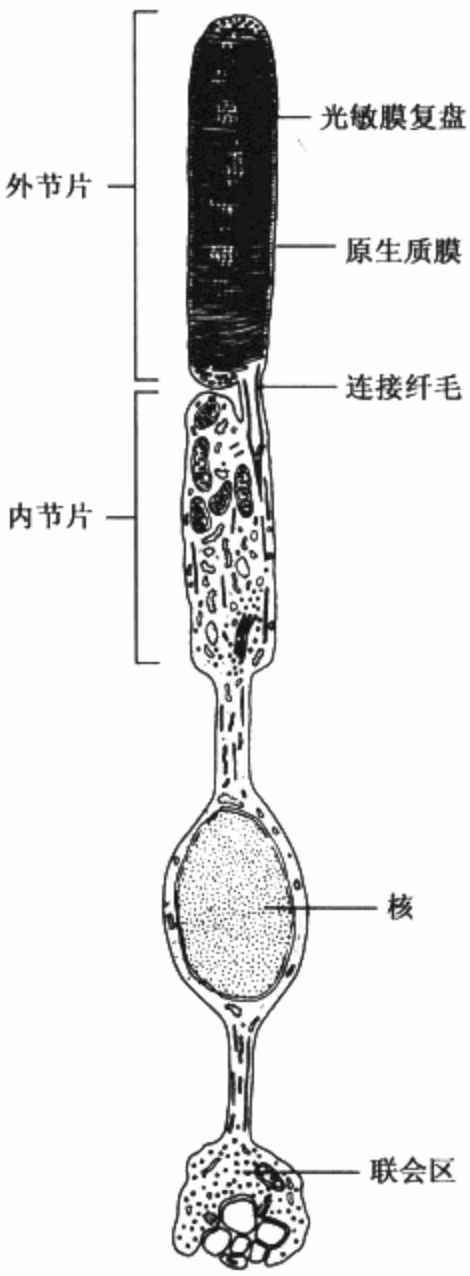


图 22-14　视网膜的结构

光线刺激光感受器引起兴奋，通过中间神经元被传递至神经节细胞，后者将信号传递至大脑。神经视网膜中神经间和光感受器间的空隙被一组特化的支持细胞占据（此处未显示）（改编自 J. E. Dowling and B. B. Boycott, *Proc. R. Soc. Lond.* B 166: 80～111, 1966）



感光细胞的外节好似一根变异纤毛，在它和细胞其余部分相连接的区域，微管的排布和纤毛内典型的微管排布方式很相似（图 22-15）。外节内部几乎充满了稠密层叠的内膜，光敏复合体嵌于其上，正如第 15 章所述，被吸收的光在此处产生电信号响应。感光细胞的另一端和中间神经元形成突触，将电信号传递至视网膜神经节细胞（图22-14）。

和听毛细胞一样，人体感光细胞也是永久细胞（不再分裂的高度分化细胞）。它们不具分裂能力，当受到疾病和直射激光的损坏时不能被更新。但是光敏感性的视紫红质分子并非永久性的，而是可以不断分解和更新。在视杆细胞中，这种更新是通过一个有序的生产流程完成的。利用放射性氨基酸的短脉冲信号来跟踪其所标记的放射性蛋白质运动路径，我们就可以分析视紫红质分子更新的过程（图 22-16）。被跟踪的放射性蛋白质从内节的高尔基体运动至外节多层内膜结构的最底端，并从这里逐渐向外节顶端运动。当到达外节最顶端时（大鼠体内大约 10 天），被标记的蛋白质和它所在的片层膜被色素上皮细胞吞噬并消化。在此过程中，新的蛋白质分子又不断的抵达多层内膜的底端。但令人费解的是，视锥细胞中并没有发现上述流程。

这个例子揭示了一个基本观点：尽管某些特定类型的细胞是被持续使用的，但组成成年个体的分子很少是从胚胎时期起就一直使用的。

图 22-15　一个杆状光感受器

小结

绝大多数感觉感受器细胞，如表皮细胞和神经细胞，是从形成胚胎外表面的上皮细胞衍生而来。它们将外部的刺激转化成电信号，再将其通过化学突触传递给神经元。鼻中的嗅觉感受器细胞（嗅觉神经元）是已经完全发育成熟的神经元，其轴突一直延伸至大脑。它们的生命周期通常只有一两个月，需要不断地被嗅上皮中干细胞产生的新细胞取代。每一嗅觉神经元只表达基因组中几百个不同的气味受体基因中的一个，但表达同种气味受体蛋白的嗅觉神经元轴突都会连接到大脑嗅球中的同一神经纤维球上。

听毛细胞是听觉感受器细胞，和嗅觉感受器细胞不同，它必须维持动物的终生使用（至少在哺乳动物体内）。听毛细胞没有轴突，但是也和听上皮中的神经末梢形成突触连接。它们在自由表面上拥有毛发状的硬纤毛束，听觉细胞也因此得名。声波的振动使硬纤毛束倾斜，牵拉使硬纤毛上的机械门控离子通道处于打开的构象，从而引起细胞的电兴奋。

眼球中的视网膜感光细胞利用外节中多层内膜上的视紫红质分子吸收光子，通过间接的细胞间信号通路引起电兴奋。虽然感光细胞自身是永久使用不可替换的，但其胞内富含视紫红质的内膜是被不断更新的。

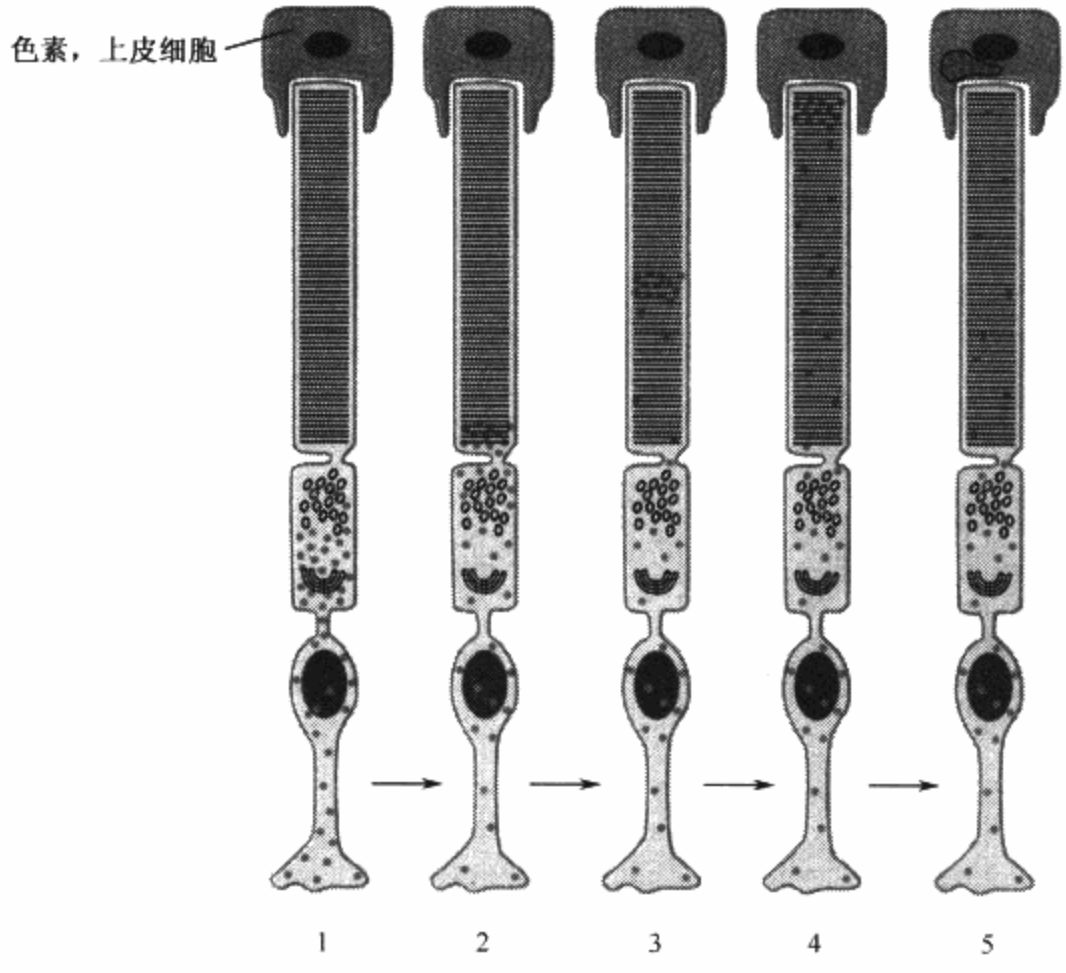


图 22-16　视杆细胞膜蛋白的更新

将细胞中注入^{3}H-亮氨酸，利用放射自显影技术追踪细胞中放射性标记蛋白质的路径。红点显示放射性位点，这种方法只显示和蛋白质结合的^{3}H-亮氨酸；而其余的^{3}H-亮氨酸则在组织制备后被洗去。①结合的亮氨酸首先集中在高尔基体附近。②从此处它们被运送至外节的底部进而进入新合成的光感受器膜盘。(3～5) 新膜盘以每小时 3～4 个的速率合成（哺乳动物体内），向色素上皮的方向替换旧的膜盘

呼吸道和消化道

以上我们所讨论的组织和细胞类型仅仅是所有胚胎外胚层衍生组织中的一小部分，但它已经显示出上皮细胞可以依据各种需要向众多不同的方向特化，也说明了这些成熟细胞的生活方式可以有很大的不同。而形成原肠的胚胎内胚层则产生另一群细胞，形成消化道及其附属物。我们将从肺脏开始介绍。

不同类型的肺泡旁细胞之间相互协作

正如第 21 章所述，胚胎时期肠道外翻形成了反复分支的管道系统，它们构成了肺部的气道。管道的分支终结于几亿个充满空气的囊泡——**肺泡**。肺泡壁很薄并且和毛细血管壁紧贴在一起，以便肺泡和血流间 O_2 和 CO_2 的交换（图 22-17）。

要想生存，组成肺泡的细胞就必须保持湿润；同时它们还必须是能随着呼吸收缩和扩张的空气储集器。这就造成了一个问题：当两个潮湿的表面相接触时，两者将由于中间水层的表面张力粘连在一起，并且作用的面积越小，效果就越明显。在这种情况下，肺泡时刻都有塌缩的危险，且不能再膨胀。肺泡中的两种细胞解决了这一问题：肺泡Ⅰ型细胞构成了大部分肺泡壁，它们呈扁平的鳞片状以便气体的交换。Ⅱ型肺泡细胞则散在Ⅰ型肺泡细胞间，它

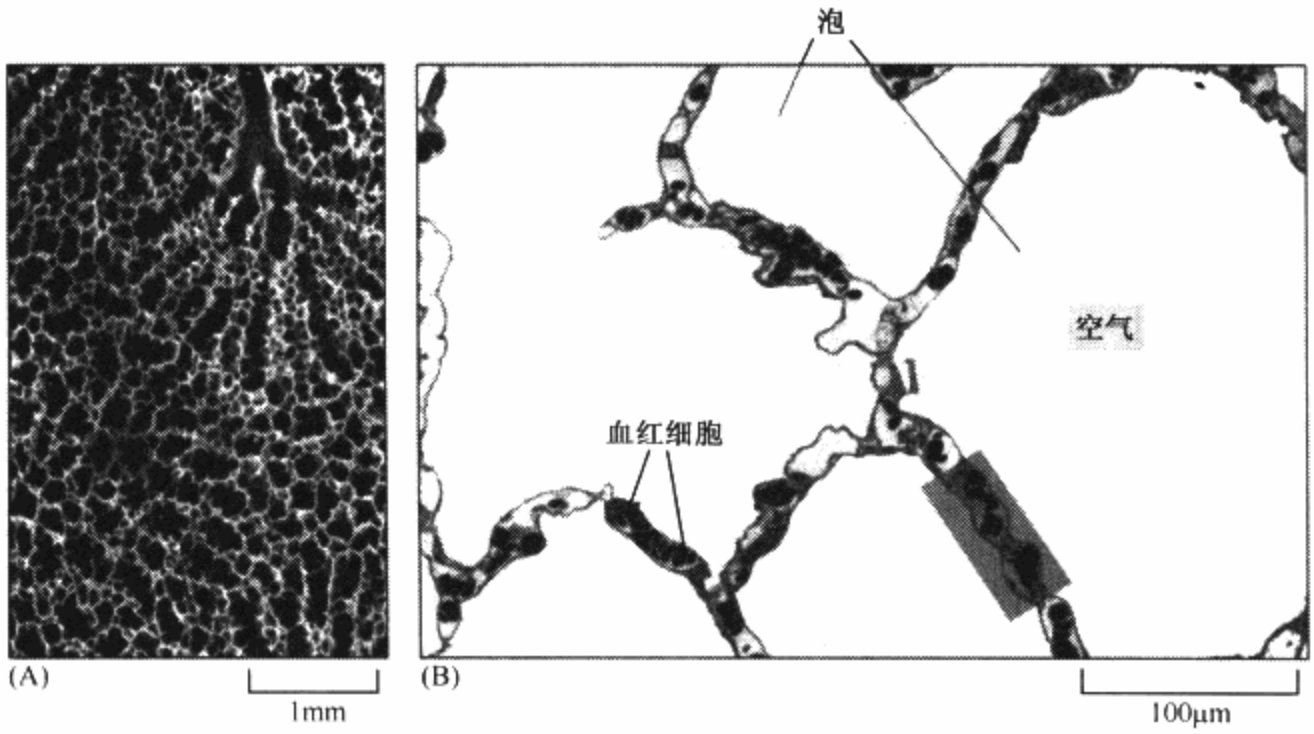


图 22-17　肺泡

（A）低放大倍数扫描电镜照片，显示充满空气的肺泡形成的海绵状组织。其顶部可见和肺泡连通的细支气管。（B）（A）中黄框部分的透射电镜照片，显示气体交换发生的位置——肺泡壁。（C）根据（B）黄框部分肺泡壁的细胞结构模式图［（A）摘自 P. Gehr et al.，Resp. Physiol. 44：61～69. 1981. © Elsevier；（B）摘自 Peter Gehr，from D. W. Fawcett. A Textbook of Histology，12th edn. New York：Chapman and Hall，1994］

们形状浑圆且分泌富含磷脂的表面活性剂。这种表面活性剂可以在游离水的表面形成一层薄膜，从而减小表面张力。即使肺泡已经塌缩，这层表面活性剂也会使其比较容易重新膨胀。人类胎儿自 5 个月大开始，就有可能产生足够的表面活性剂，具有了脱离母体独立生存的可能性。因此，还未达此阶段的早产儿不能张开肺进行呼吸，而已达此阶段的早产儿则可以做到这一点。后者通过加强监护时可以存活的。

杯状细胞、纤毛细胞、巨噬细胞的协作保证了呼吸道的清洁

在呼吸道的上端具有多种不同类型的细胞，行使不同的功能。我们吸入的空气充满了粉尘、灰尘和空气传播的微生物。为了保证肺的清洁，这些污物必须不断地被清除，因而在较大的呼吸道部分覆盖有一层很厚的呼吸上皮（图 22-18）。它由三种分化细胞组成：杯状细胞（因形状得名）分泌黏液；纤毛细胞具有摆动的纤毛；内分泌细胞分泌充当局部调节剂的血清素和肽，这些信号分子可以影响呼吸道中的神经末梢和其他相邻细胞，以调节黏液分泌的速度、纤毛摆动的速度、束紧呼吸道的平滑肌细胞的收缩等。当然，呼吸上皮中也存在基底细胞，它们是负责上皮更新的干细胞。

杯状细胞分泌的黏液在纤毛的顶端形成一层大约5μm厚的黏弹性层。所有的纤毛大约以每秒12次的速度向同一方向摆动，将裹挟着污物的黏液清除出肺部。这条移除肺部垃圾的传送带被称作黏液纤毛自动扶梯。虽然有些被吸入的颗粒可能避开了自动扶梯的清除，到达肺泡，但是肺泡中游离着另一群特殊的细胞——巨噬细胞，它们将这些“漏网之鱼”吞入胞内，杀死并消化细菌。然后通过黏液纤毛自动扶梯，肺部每小时会清除数以百万计的吞噬有污物的巨噬细胞。

呼吸道上端没有被黏液覆盖的呼吸上皮，而是突然转换成了复层扁平上皮。后者的结构适于承受机械力，能起到保护的作用。和表皮很相似，呼吸道复层扁平上皮也是由内部充满稠密角质素的多层扁平细胞构成的。但和表皮不同的是，其各层细胞都保持湿润，即使是最外层的细胞也保留有细胞核。像呼吸道中这种黏液上皮和复层扁平上皮具有明显分界的现象在身体的其他部分也有出现，但是这种现象是如何产生并维持的，至今人们仍知之甚少。

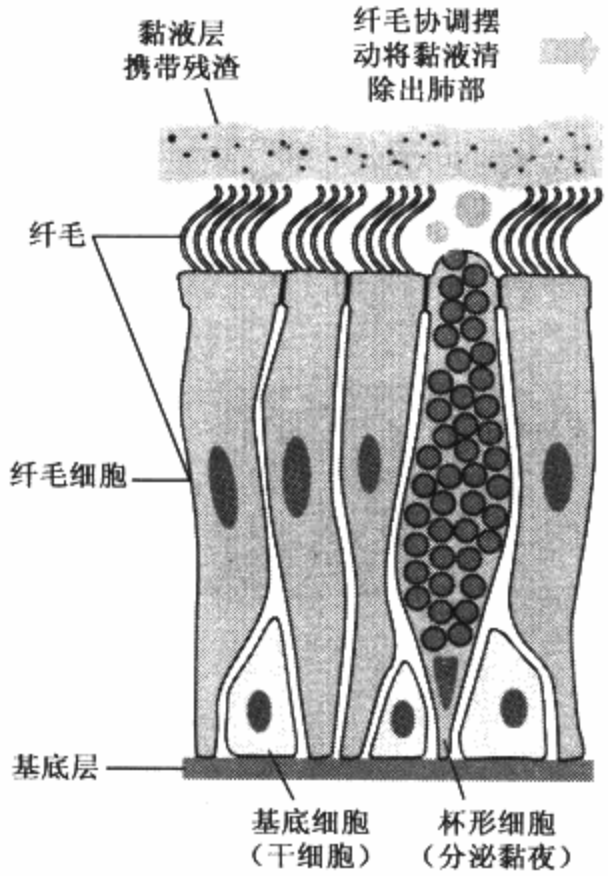


图 22-18　呼吸上皮

杯状细胞分泌黏液，在纤毛细胞上形成黏液层。纤毛规则协调的摆动将携带着粉尘、污物的黏液清除出呼吸道。协调纤毛摆动的机制仍未揭示，但这一运动显示出上皮细胞的内在极性。如果将兔子呼吸道的一段通过外科手术反转，此段呼吸道仍能清除黏液，但是方向却错误的朝向肺部，和其相邻的未反转呼吸道相反

小肠内壁细胞的自我更新快于其他任何器官

只有进行空气呼吸的脊椎动物具有肺脏，但是所有的脊椎动物和几乎大部分无脊椎动物都具有消化道。消化道细胞专门负责消化食物和吸收消化后释放的营养物质分子。当消化道腔内进行消化食物的过程时，有可能把包括营养吸收细胞在内的消化道自身消化掉，因此消化和吸收是不能同时进行的。消化道通过很多方法解决了这个问题。

反应最激烈的消化过程包括酸水解和酶反应，这些都发生在一个相对隔离的反应器中，即胃。消化产物随即被转移到小肠。在这里，营养物质将得到吸收，酶促消化反应将在pH中性条件下继续进行。消化道的不同部分是由不同类型细胞组合构成的：胃上皮包括分泌酸的细胞和分泌在酸性条件下工作的酶的细胞，某些最暴露的表面还含有黏液细胞。和小肠起始端连通的消化腺（尤其是胰腺）含有分泌碳酸盐的细胞，用于中和胃酸；还含有分泌在中性条件下工作的消化酶的细胞。处于胃下游的小肠含有吸收细胞和黏液分泌细胞，后者分泌的黏液覆盖在小肠上皮表面形成保护层。此外，胃和肠道的所有部分都会不断地被新产生的细胞替换，这种更新平均不到一周便会发生一次。

消化道各部分的更新机制中，小肠的研究得最清楚（图22-19）。包括小肠在内的大部分消化道都具有单层上皮。这层上皮覆盖着小肠内腔面中突起的绒毛，也覆盖着绒毛间下陷到结缔组织中的隐窝。具有分裂能力的干细胞保存在隐窝的深处，产生4种分化的子细胞（图22-20）：①吸收细胞（或刷状缘细胞），在其腔面具有密集的微绒毛以增加吸收表面；②杯状细胞（和呼吸上皮中的很相似），分泌黏液；③潘氏细胞，固有免疫系统的成员（讨论见第25章），分泌cryptdin——用于杀菌的防卫素家族中的一种蛋白质（图25-39）和某些生长因子；④肠内分泌细胞，具有多于15种的不同亚型，分泌肠胺和肽类激素，如作用于消化道壁神经和其他细胞，调节消化道和其他组织细胞生长、增殖和消化活动的缩胆囊素。很多胃肠

激素同时也是神经系统中的神经肽信号分子。

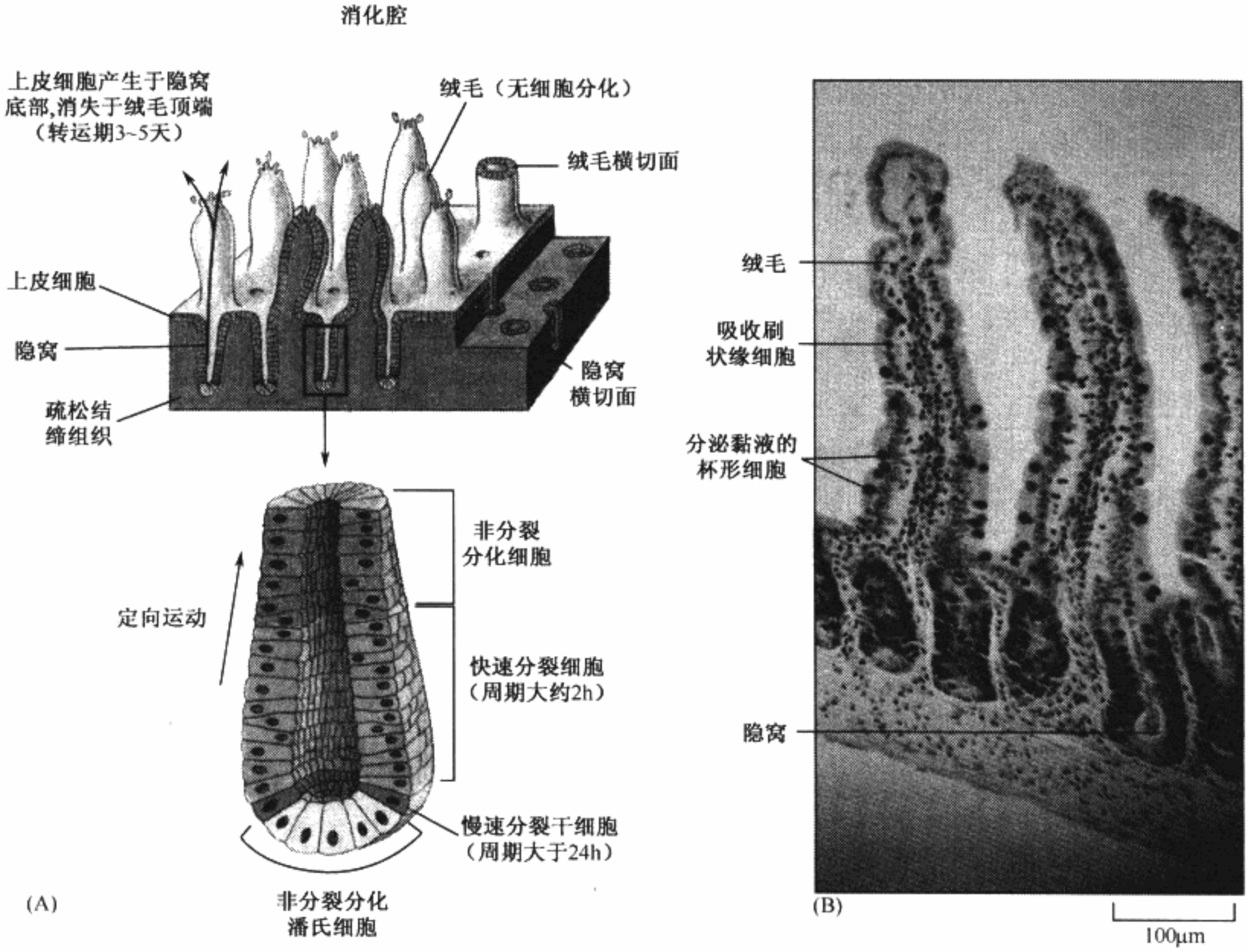


图 22-19　消化道内部的更新

（A）形成小肠内面的上皮的细胞更新模式和干细胞增殖。箭头显示小肠绒毛细胞向绒毛顶端的运动方向。但是包括一部分杯状细胞和肠内分泌细胞在内的一些细胞会始终在隐窝处停留并分化。在隐窝底部不分裂的分化细胞（潘氏细胞）生命有限，会不断地被干细胞的后代代替。（B）小肠内面部分截面的照片，显示小肠绒毛和隐窝。注意杯状细胞（染色红色）分散在其他细胞类型间。肠内分泌细胞数量很少，如果没有特殊染色很难确定。这些细胞的结构见图 22-20

吸收细胞、杯状细胞和肠内分泌细胞从隐窝干细胞区域产生后，通过在上皮平面上的滑行向上移动，覆盖绒毛表面。和表皮一样，小肠细胞也经历了转运增殖过程：上述三种细胞的前体细胞在上移过程中已经开始分化，4～6 次快速分裂后进行终末分化。在鼠体内，小肠上皮细胞从在干细胞区域分裂产生至到达绒毛顶端需要 2～5 天，然后它们进入凋亡的最初阶段并最终从消化道内腔面脱落。潘氏细胞数量较少，它的迁移模式和上述三种细胞有所不同，一般是停留于隐窝底部。在那里它们被缓慢的更新，生命周期大约 20 天（鼠体内），然后凋亡并被相邻细胞吞噬。

消化道上皮细胞迁移的驱动力仍不为人知，人们猜测可能是不同类型细胞对它们所接触的基膜信号分子的特异性应答导致了不同的迁移模式。因为不同区域的基膜富含不同类型的层粘连蛋白：α1 和 α2 层粘连蛋白亚基聚集在隐窝的基膜处，而 α5 层粘连蛋白亚基则在绒毛的基膜处延绒毛纵轴呈梯度分布，最大浓度在绒毛顶端。

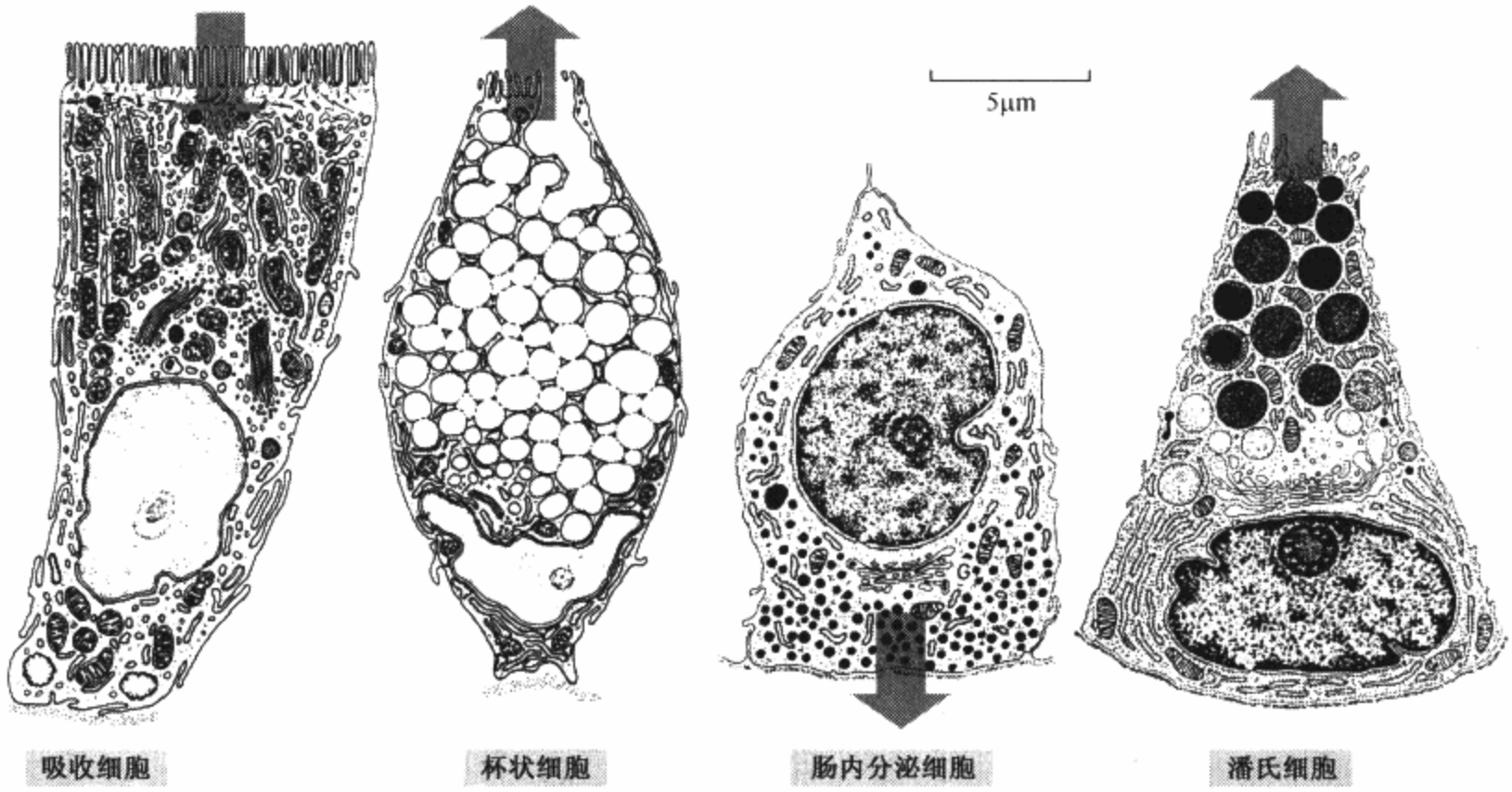


图 22-20　小肠内上皮的 4 种主要分化细胞

所有这些细胞都是从生活在近隐窝底部的未分化的多能干细胞（图 22-19）产生的。在吸收细胞上表面的微绒毛（刷状缘）将表面积增加了 30 倍。这不仅有助于营养物质的吸收，还有助于细胞外消化最后阶段的酶的锚定驻留。这些酶能够将小肽段和二糖降解为单体，以便于其穿过细胞膜

Wnt 信号途径中的成员用于维持消化道干细胞的数量

什么因素决定消化道干细胞是继续停留在干细胞阶段还是开始分化？什么机制使得干细胞后代多样化，产生 4 种不同类型的细胞？除了知道这些因素和机制对正常生命的维持和疾病的产生（包括一些常见的癌症）都很关键以外，我们仍然没有找到答案，但至少已经有了一些线索。

例如，肠内分泌细胞的产生依赖 Notch 信号通路控制的细胞命运选择，这和胚胎中枢神经系统中神经元的产生方式一样（讨论见第 21 章）。进行阻断 Notch 信号的突变，则肠内分泌细胞将以牺牲其他三种细胞的数量为代价过量增长，至少在胚胎阶段是如此。

另一些实验指出 Wnt 信号通路对于维持消化道中干细胞的数量是十分关键的。缺失该通路中基因调节蛋白 LEF-1/TCF 家族中一种蛋白质的缺陷小鼠（讨论见第 15 章）就提供了一个支持证据：突变胎鼠的小肠绒毛由已分化的上皮细胞覆盖，但由于没有具可繁殖干细胞的隐窝，这种上皮无法更新，因而胎鼠在出生后很快就会死亡。相反，突变成年个体内另一个基因（APC 基因——图 15-72）使 Wnt 信号通路过度活跃，这会导致隐窝干细胞的过量增殖，极易引发癌症（讨论见第 23 章）。上述实验说明除了在表皮中，Wnt 信号在消化道中也同样发挥着重要的作用，负责干细胞性质的维持和其增殖的调控。

肝是消化道和血液之间的汇合处

正如上述几节的讨论，消化道中不同的细胞肩负着不同的使命：一些专门分泌盐酸，一些分泌酶，还有一些负责营养物质的吸收等。某些类型的细胞在消化道内壁的上皮中混合排布，而另一些细胞则只存在于和消化道相联系的大型腺体内。这些腺体实际是胚胎时期由消

化道上皮生长形成的。

肝脏是这些腺体中最大的一个，它发生于主静脉和原肠壁十分靠近的位置上。成体肝脏和血液之间维持着一个比较特殊的关系。从原肠上皮发生的肝细胞在肝中排列成相互联系的细胞板或细胞索，其间的空隙充满血液，称作血窦（图 22-21）。肝细胞暴露的表面由单层扁平上皮细胞覆盖，从而和血液隔开。这种结构有助于肝脏行使其主要功能，即肝细胞和血液之间代谢物质的交换。

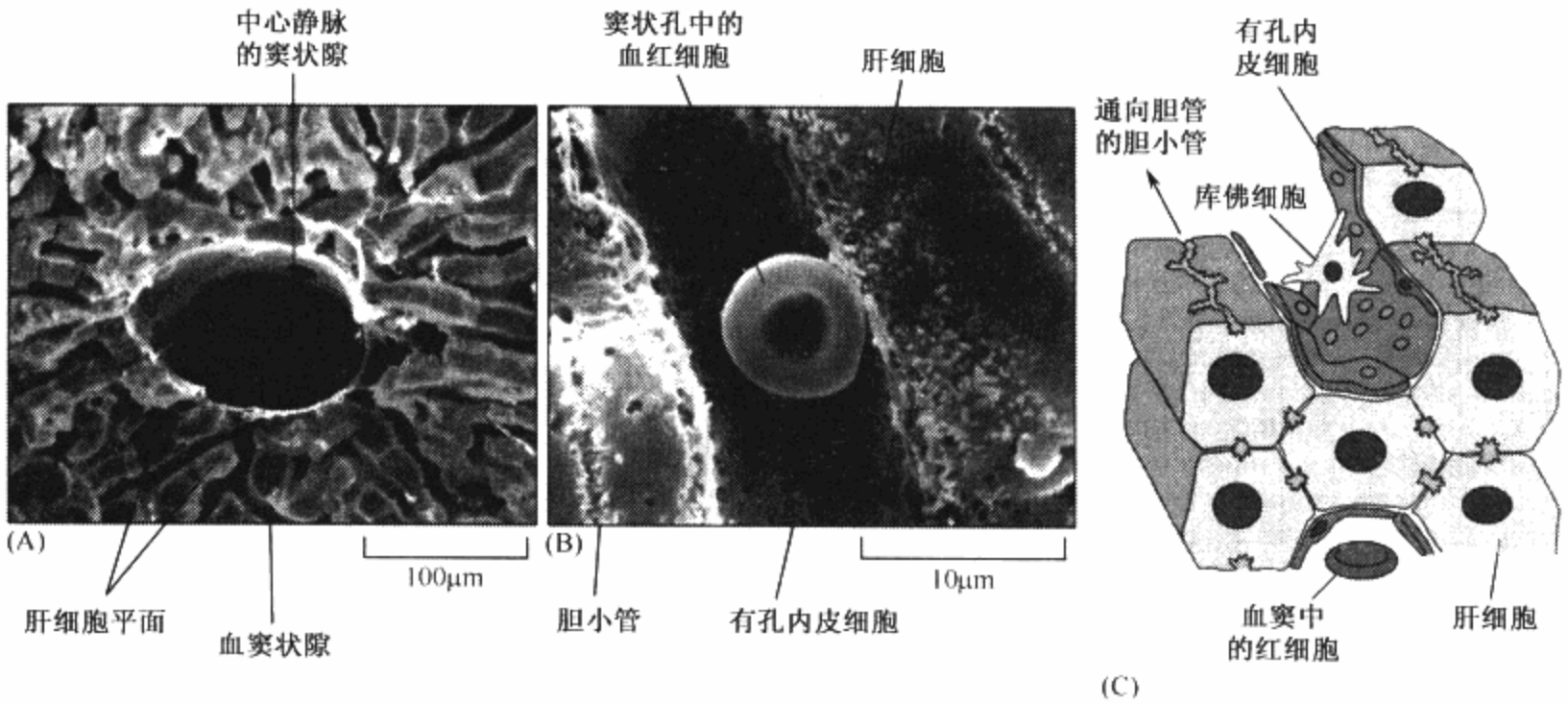


图 22-21　肝脏的结构

（A）肝脏一部分的电镜照片，显示不规则肝板、肝索和很多小的血流通道或肝血窦。较大的管道是向肝血窦运送血液或从肝血窦收集血液的血管。（B）肝血窦的局部放大图［（A）右下角黄框标记区域的放大图］。（C）肝脏精细结构的模式图。肝细胞和血液被单层内皮细胞形成的薄内皮分开，内皮细胞间散在有肝巨噬细胞（库佛细胞）。内皮上有小孔，称为窗（fenestra）。它允许分子和小颗粒在肝细胞和血液间交换。除了和血液间进行物质交换，干细胞还构成了胆小管系统，并向其中分泌胆汁。胆汁最终通过胆管被释放到消化道中。模式图所示比实际结构规则［（A）和（B）经 Pietro M. Motta 允许 . Rome "La Sapienza" 大学］

营养物质被小肠吸收后将被转移至血液中，经过加工后才能被机体的其他细胞利用，而肝脏就是进行营养加工的主要器官。肝脏的血液主要由小肠经肝门静脉直接提供。肝细胞负责合成、降解、储存大量物质，在整个机体的糖代谢和脂类代谢中都发挥着重要的作用，还分泌大量血浆中的蛋白质。同时，肝细胞和消化道腔通过微管和较大的管道系统相连接［图 22-21（B）、（C）］，并且通过这些管道向消化道分泌代谢废物和乳化剂（胆汁）以帮助脂肪的吸收。肝细胞很大，在成人体内，大约有一半肝细胞是多倍染色体，即其 DNA 数量是正常二倍体细胞的 2 倍、4 倍、8 倍甚至更多倍。

和消化道的其他部分相比，肝细胞似乎很少分裂。每个肝细胞都具有相同的新陈代谢和分泌功能。这些已经完全分化的细胞在有所需要时可以重复分裂，这将在下文做进一步的阐述。

肝细胞的消亡或损失刺激肝细胞增殖

肝脏提出了发育组织生物学上一个至今未解决的难题：是什么决定了机体器官的绝对大小，或是一种组织性对另外一种组织的相对数量？可以肯定的是，对于不同器官答案是不同

的。但是至今还没有一种器官的机制被研究清楚。

肝细胞的寿命一般是一年或更长，因此它的更新速度很慢。但即使在这种更新缓慢的组织中，细胞产生速度和细胞死亡速度间微小但持续的不平衡也会造成非常可怕的后果。如果一个人每周有 2%的肝细胞分裂但只有 1%的细胞死亡，则在 8 年内，他的肝脏就会长到超过身体的其他部分重量的程度。因此细胞增殖和（或）细胞死亡的速度必须有稳态机制的调节，以保证器官的正常大小，而且肝脏必须和机体的其余部分相称。事实上，当一条小狗的肝脏移植给一条大狗时，它会快速生长至和新主人相匹配的大小；相反，把大狗的肝脏移植给小狗时，它会缩小。

肝细胞增殖稳态控制的直接实验证据是：用外科手段移除或用四氯化碳杀死大量肝细胞，几天后幸存的肝细胞就会分裂产生大批的新细胞，使缺失的组织很快得到修复（如果肝细胞已被完全清除，那么胆管附近其他类型的细胞将像干细胞那样产生新的肝细胞，但通常这种情况极少发生）。例如，移除大鼠肝脏的 2/3 后，通过剩余肝细胞的增值，大约两周以内就可以使肝脏几乎恢复到原来的大小。这种修复过程的引发牵扯到很多分子，其中最重要的一种是叫做肝细胞生长因子的蛋白质。它刺激培养皿中肝细胞的分裂，并且当肝脏受到损害时，它的浓度会陡然上升（此机制还不清楚）。

在成年个体的肝脏（和其他器官）中，细胞产生和细胞死亡间的平衡并不仅仅依赖细胞增殖调节，细胞存活控制机制也起到了一定作用。如果对成年大鼠施用药物苯巴比妥，则会刺激肝细胞的分裂，导致肝脏增大。当停止用药时，肝细胞死亡的速度将大大增加，直至肝脏恢复最初的正常大小，这一般需要一周左右的时间。虽然这种细胞存活控制机制尚不清楚，但已经证实和其他大多数脊椎动物细胞一样，肝细胞需要依赖其他细胞释放的信号因子来维持生命，并且这些信号因子的正常水平只能支持一定数量标准的肝细胞存活。如果数量超过了这个标准（如像使用苯巴比妥后的结果），肝细胞死亡的速度将自动增加，直至数量回落到正常水平。但是目前我们还不清楚这些支持肝细胞存活因子的适宜浓度水平是如何维持的。

小结

肺行使的功能很简单，即气体交换。但是它的主要结构系统相当复杂。表面活性剂分泌细胞可以防止肺泡的塌缩。巨噬细胞不断地将灰尘和微生物清除出肺泡。分泌黏液的杯状细胞和具有摆动纤毛的纤毛细胞形成黏液纤毛自动扶梯，将灰尘碎屑移出呼吸道。

很多具有潜在损伤性的化学反应过程发生在消化道中，因而吸收上皮需要持久快速的更新机制地修复和保护。在小肠中，隐窝中的干细胞每周新产生的吸收细胞、杯状细胞、肠内分泌细胞和潘氏细胞将替换掉大多数小肠上皮细胞。Notch 信号通路在一定程度上控制了干细胞后代命运的多样性，而 Wnt 通路则负责维持干细胞的数量。

肝脏是受到较多机制保护的器官，但它也可以根据需要调节细胞增殖和死亡间的平衡关系来增大或缩小体积。已分化的肝细胞仍然终生具有分裂能力，这说明组织的更新并不总是依赖干细胞的。

血管和内皮细胞

以上我们讨论的组织都起源于外胚层或内胚层，现在我们将转而讨论起源于中胚层的组织。夹在内、外胚层之间的中胚层细胞生长分化成为提供各种支持作用的组织，包括结缔组织、血细胞、血管、肌肉、肾脏等。我们将从血管开始介绍。

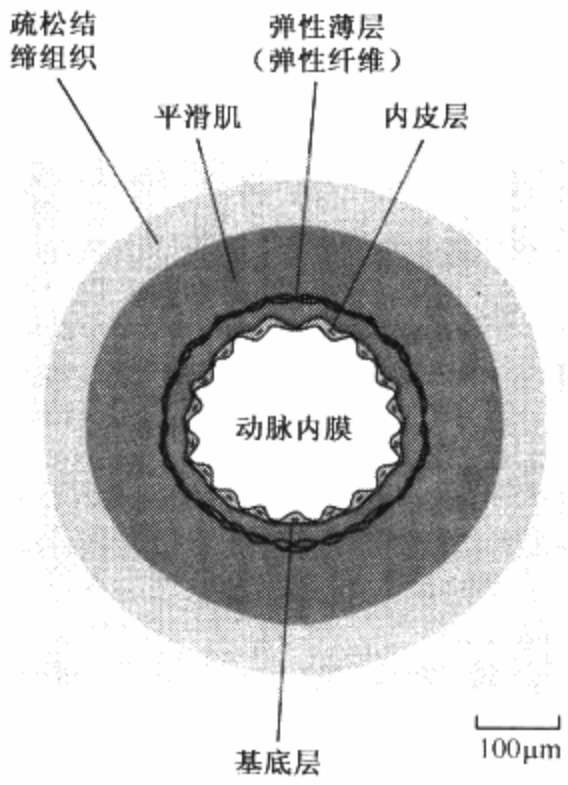


图 22-22　小动脉横切模式图

内皮细胞虽然不明显，但却是构成小动脉的基础成分。和图 22-23 相比较

几乎所有的组织都需要血液的供应，而血液的运送又依赖**内皮细胞**形成的血管。内皮细胞调节自身数量和排布的能力很强，以适应机体不同环境的需要。它通过迁移几乎进入机体的各个区域，产生一个具有适应能力的生命支持系统。如果没有内皮细胞迁移建立血管网络，那么组织的生长和修复将不可能进行。和正常组织一样，癌症组织也依赖血液的供应，这使得有关内皮细胞的研究成为热门。研究人员希望通过使用针对内皮细胞的药物来抑制新的血管形成，从而有可能阻碍肿瘤的生长（讨论见第 23 章）。

内皮细胞分布于所有血管内壁

动脉和静脉是最大的血管，它们有结缔组织形成的厚且强韧的管壁和数层平滑肌细胞（图 22-22）。血管壁的最内层是由一层极薄的上皮细胞形成的血管内皮，基膜将它和管壁外层分开。管壁中结缔组织和平滑肌的多少根据血管的直径和功能有所变化，但是所有的血管都具有内皮。血管最细的分支（毛细血管和血窦）的管壁都只含有内皮包和基膜（图 22-23），以及发挥重要功能的散在的少量周细胞。后者属于结缔组织家族，和围绕包裹小血管的血管平滑肌细胞亲缘关系密切（图 22-24）。

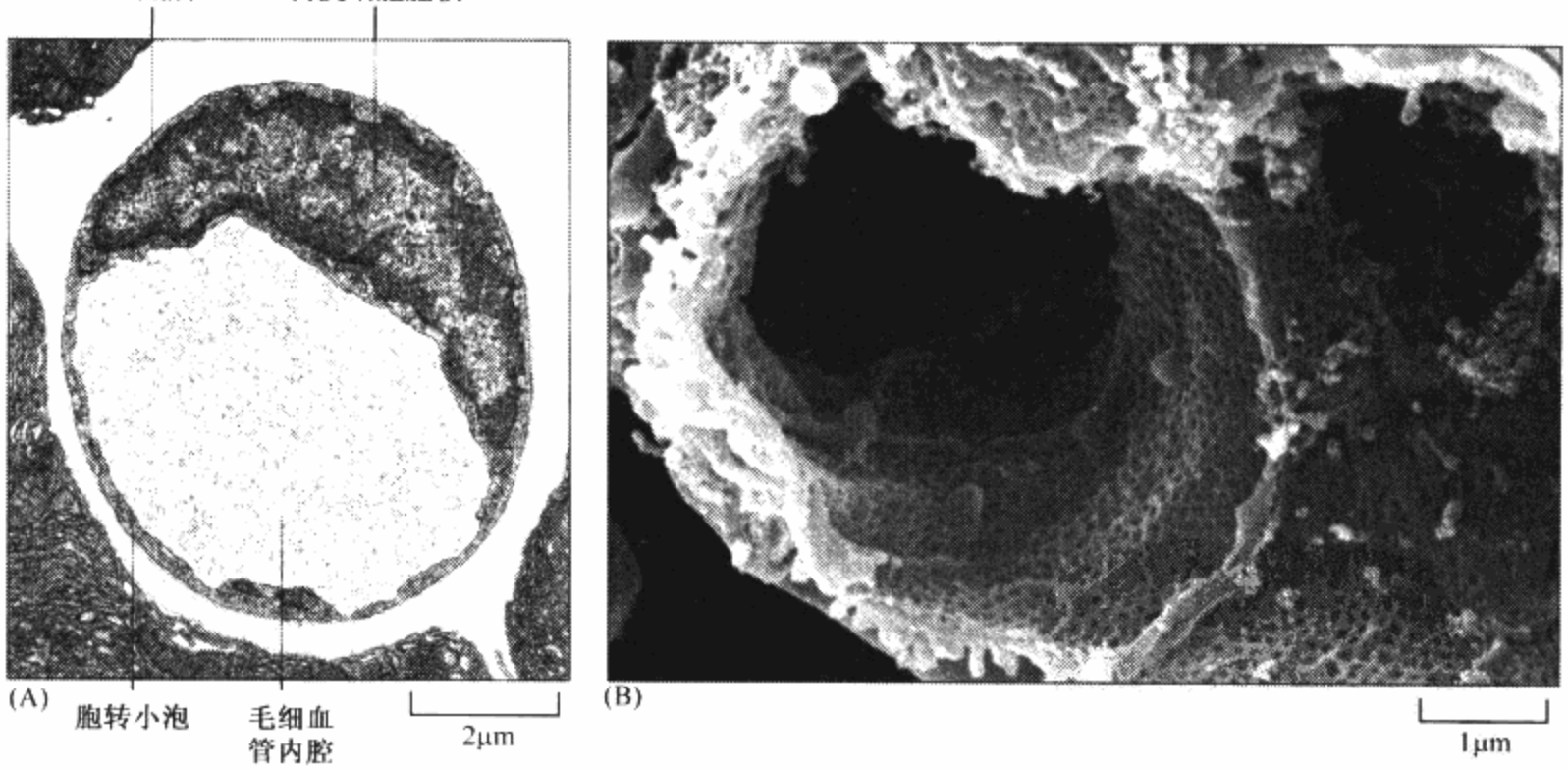


图 22-23　毛细血管

（A）胰腺小毛细血管横截面的电镜照片。管壁由一个内皮细胞及包围它的基膜构成。注意“跨细胞”小囊泡，根据某一理论它负责将大分子输入、输出这种毛细血管：物质被毛细血管细胞的腔面胞吞进入血管再被细胞外表面胞吐卸载，反之亦然。（B）肾脏肾小球毛细血管内部的电镜照片。血液的滤过液在此处形成尿液。和肝脏中一样（图 22-20），此处毛细血管的内皮细胞特化形成一种具有“窗”的筛状结构，很像真核细胞核被膜上的核孔，它们使得水和大部分分子可以自由离开血液［（A）摘自 R. P. Bolender. J. Cell Biol. 61：269～287，1974. © The Rockefeller University Press；（B）经 Steve Gschmeissner David 和 Shima 允许］

因此，从心脏到最小的毛细血管，内皮细胞覆盖了整个血管系统，并控制着白细胞运入和运出血液。而且关于胚胎的研究显示，动脉和静脉是从只有内皮细胞和基膜组成的小血管发育来的。周细胞、结缔组织和平滑肌都是随后受到内皮细胞信号分子的影响而加到指定的位置的。例如，周细胞的添加依赖内皮细胞分泌的 PDGF-B，在缺失这一信号蛋白或它的受体的突变体内，很多区域的周细胞都丢失了。结果导致胚胎血管产生微观动脉瘤（一种在显微镜下可见的病理性膨胀）、动脉瘤破裂及其他异常情况。这说明周细胞和内皮细胞间的双向信号交换是十分重要的。

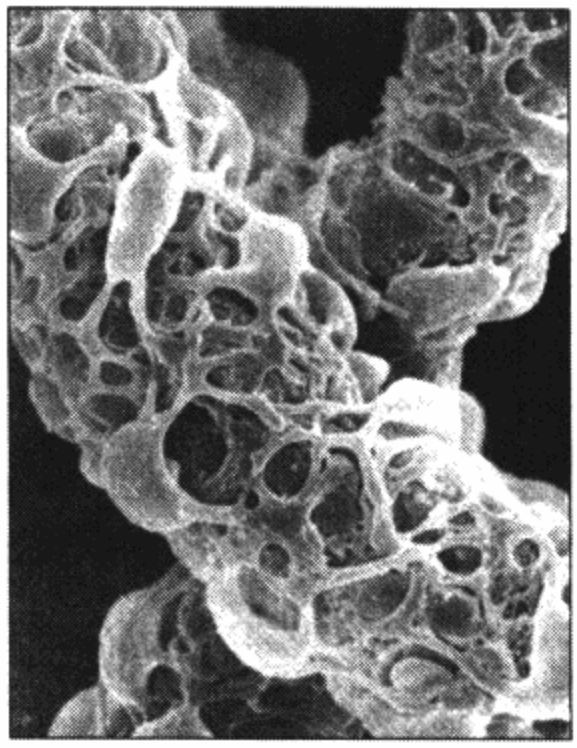


图 22-24　周细胞

扫描电镜照片显示周细胞将它们的突起包裹在猫的乳腺小血管上（毛细血管后的小静脉）。周细胞也出现在毛细血管上，但是比图中分散的多（摘自 T. Fujiwara 和 Y. Uehara. *Am. J. Anat.* 170：39～54，1984. © Wiley-Liss.）

血管成熟后，内皮细胞传递给周围结缔组织和平滑肌的信号在调节血管的功能和结构上仍然起着关键的作用。例如，内皮细胞具有机械性刺激感受器，可以感受血液流过其表面时产生的切应力；它们把这一刺激信息通过信号传递给周围细胞后，后者可以调节血管的直径和管壁的厚度来适应血液流速。内皮细胞还能对导致血管扩张的神经信号作出迅速的反应，释放 NO 气体使管壁平滑肌舒张（讨论见第 15 章）。

现有内皮细胞的简单分裂产生新的内皮细胞

成年个体全身血管系统中的内皮细胞都保留有分裂和运动的能力，例如，当主动脉管壁部分受损，某些区域失去了血管内皮的保护时，相邻的内皮细胞就会增殖并迁移至此，覆盖裸露的区域。

用 ^{3}H-脱氧胸腺嘧啶核苷标记细胞 DNA 的合成证明了内皮细胞的增殖活动。在大多数成熟组织内，内皮细胞的更新换代非常缓慢，且由于细胞寿命的差别而有所不同：鼠的肝脏和肺脏内皮细胞的更换周期大约是几个月，而在脑和肌肉中大约几年。除了修复更新已有的血管，内皮细胞还能产生新的血管。这可以满足胚胎组织生长的需要；可以支持正常的成体组织中某些周期的重建过程（如月经周期中子宫的重建），还可以帮助某些被损坏的组织进行修复。在上述情况下，内皮细胞增殖的倍加时间只有几天。很多证据表明，由于血液中含有少量来自骨髓的内皮前体细胞，当某处血管需要快速增长时，甚至可以通过从血流中征召细胞的方式来增加此处内皮细胞的数量。

新的毛细血管通过芽殖形成

所有的新生血管都是从毛细血管发端的，而这些毛细血管则是从已存在的小血管上芽殖生长出来。血管发生是受到某些特殊信号的刺激才发生的过程，在天生透明的机体结构，如眼角膜中很容易被观察到。这些信号分子刺激新生血管从眼角膜周围血液供应充足的组织边缘延伸至几乎没有血液供应的角膜中心。这样，通过内皮细胞向强韧的胶原组织入侵，完成了眼角膜的血管化。

观察证明，将要形成新生毛细血管的内皮细胞会从已存在的毛细血管或小静脉表面先伸

出一条长长的伪足，形成毛细血管芽，进而其中央形成空洞成为管状（图 22-25）。这一过程将会不断循环直至**毛细血管芽**遇到另一个毛细血管并和它连通，使血液流通。分别负责动脉和静脉血管网络发育的内皮细胞，其表面特性有所不同，至少在胚胎中是这样：动脉细胞细胞膜含有跨膜蛋白 ephrin-B2（讨论见第 15 章）；而静脉细胞细胞膜上含有相应的受体 Eph-B4，一种受体酪氨酸激酶（讨论详见第 15 章）。这些分子和细胞之间的接触位点所产生的信号相互作用，对于血管网络的正常发育十分关键，有人认为它们在某种程度上决定了一条正在生长的动脉端毛细血管和另一条正在生长的静脉端毛细血管相连接的规则。

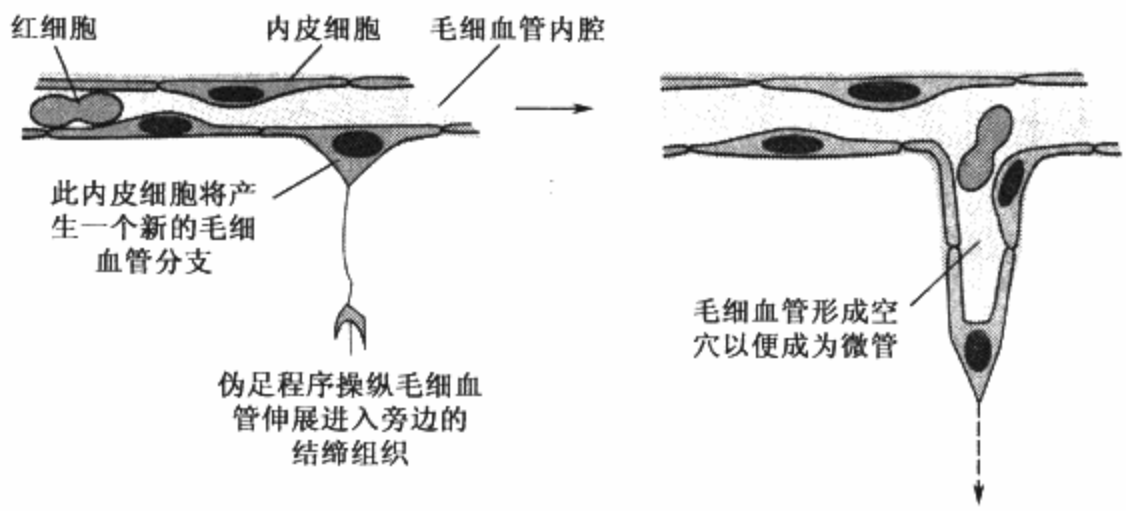


图 22-25　血管再生

原有的小血管管壁上的内皮细胞突起最终形成新的毛细血管。这张模式图基于对一只活体蝌蚪透明尾部细胞的观察（摘自 C. C. Speidel，*Am. J. Anat.* 52：1～79. 1933）

实验证明在适合的生长因子充足的培养基内，即使和其他类型的细胞隔离，内皮细胞仍将自发形成毛细血管（图 22-26）。这些体外培养的毛细血管内没有血液或其他任何物质流通，说明血液和压力并不是新的毛细血管网络发生的必要条件。

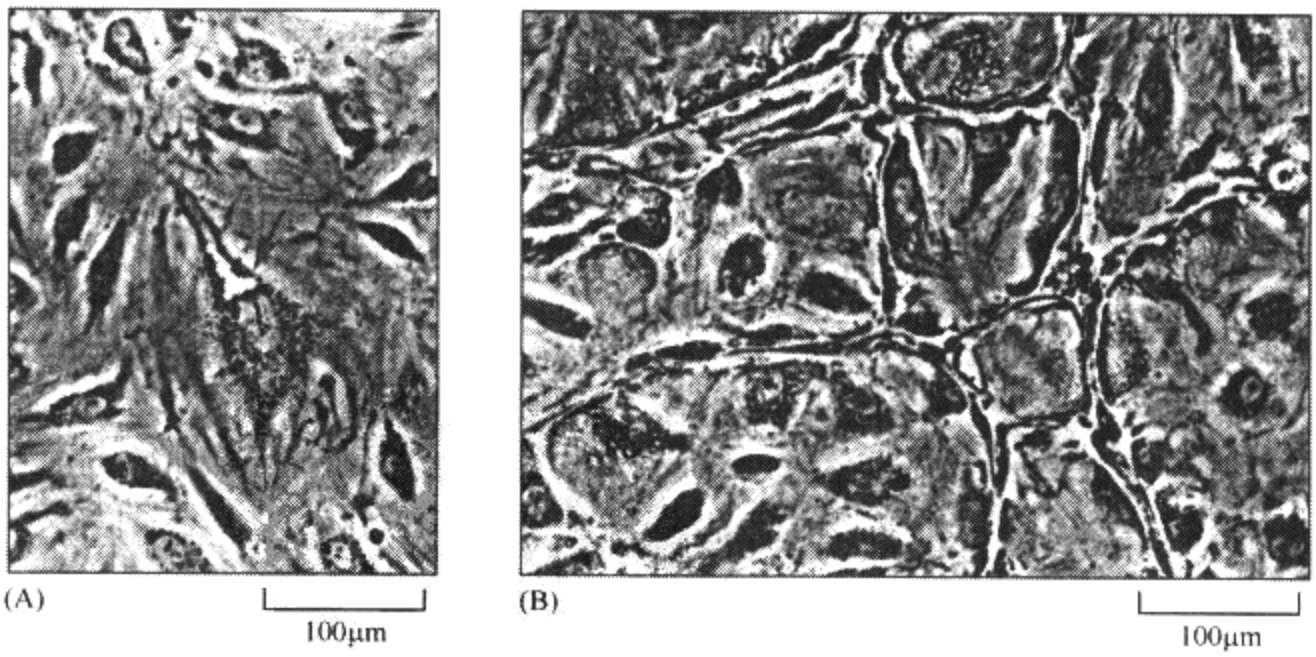


图 22-26　体外毛细血管的形成

组织培养的内皮细胞可以在内部自发形成空泡，然后细胞彼此连接起来产生毛细血管网络。这些照片显示了这一过程的连续阶段。（A）中的箭头表示一个内皮细胞中一个空泡刚开始形成。培养过程从包含 2～4 个内皮细胞的毛细血管小碎片开始。这些细胞会附着在包被有胶原的培养皿表面形成一个扁平的集落。细胞增殖时，集落会逐渐增大并在培养皿里延伸。大约 20 天后，毛细血管开始在中央区域形成。管道一旦形成，分支就会迅速出现，再经过至少 5～10 天，就可见一个伸展的管道网络，如（B）所示。这一过程非常依赖细胞环境中胞外基质的性质：毛细血管是由基膜中的成分促进形成的，如内皮细胞自身分泌的层粘连蛋白（摘自 J. Folkman and C. Haudenschild. *Nature* 288：551～556，1980. © Macmillan Magazines Ltd.）

血管发生受到外围组织所释放的因子的控制

脊椎动物中几乎所有组织每一个细胞的周围 50～100μm 内都有一条毛细血管。那么是什么机制保证血管系统的分支可以覆盖机体的每一个角落？血管发生的过程是如何被如此完美的调节，以至于不管在正常的发育过程中还是在各种病理条件下它都能满足局部组织的需要？以受伤为例，伤口可以诱导损毁处周边的毛细血管快速生长，以满足伤口修复过程中代谢水平升高的需要（图 22-27）。局部的刺激和感染也会导致新的毛细血管的增殖，但当炎症消退时，这些新生血管中的绝大多数都将退化消失。如果将少量肿瘤组织移植入血管本应较少的角膜后，血管将从角膜中原先的位置向移植处快速生长，一旦血管接近肿瘤组织，肿瘤增生的速度将会骤然加快。

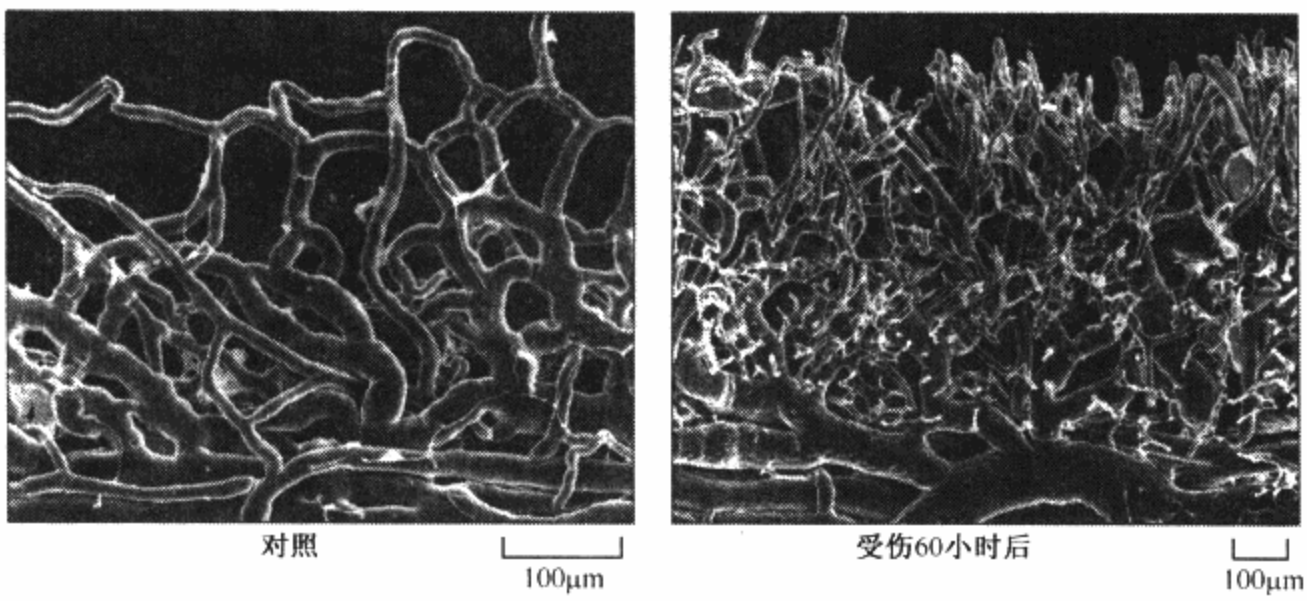


图 22-27　伤口引起的新的毛细血管形成

围绕角膜周边的血管系统铸模的扫描电镜照片，显示出血管对伤口的反应。铸模是通过向血管注射树脂，树脂凝固后形成的；相对于细胞部分，它可以显示管腔的形状。受伤 60 小时后新的毛细血管开始向伤处出芽，如图片顶端所示。它们定向的生长反应了内皮细胞对伤处释放的血管生成因子的趋化反应（经 Peter C. Burger. 允许）

上述的所有例子都说明，组织产生的信号引发了内皮细胞的血管发生过程，最终将新生血管侵入该组织。这些信号都很复杂，但是其中起关键作用的都是**血管内皮生长因子（VEGF）**，它和血小板衍生生长因子（PDGF）有较远的亲缘关系。通过改变 VEGF mRNA 的稳定性和转录速度可以控制 VEGF 的表达水平，起到了调节血管生长、满足组织需求的作用。VEGF 的表达调控已经被研究得比较清楚：任何细胞中氧的短缺都将引起基因调节蛋白**缺氧诱导因子 1（HIF-1）**激活形式的细胞内浓度上升。HIF 会刺激 VEGF 基因（和其他一些缺氧时急需的蛋白质产物的基因）的转录。VEGF 蛋白表达后被细胞泌出，在组织间扩散，作用于邻近的内皮细胞。

VEGF 有选择地作用于内皮细胞，使其产生一系列应答反应。应答反应至少分为 4 部分：首先，细胞产生蛋白酶，消化毛细血管或小静脉母体的肌膜，为新生毛细血管打开一条通路；第二，内皮细胞向着信号发出的源头迁移；第三，内皮细胞增殖；第四，细胞形成管状并分化（其余生长因子，包括成纤维细胞生长因子家族的一些成员，也能刺激内皮细胞的血管发生，但它们同时对其他类型的细胞也有影响）。

当新的血管形成并将血液引入组织中时，氧的浓度开始上升，HIF-1 的活性下降，VEGF 的表达中止，血管发生过程也随之停止（图 22-28）。像所有的信号系统一样，信号的

正确关闭和信号的正确开启一样重要。在供氧充足的正常组织中，HIF-1 的持续降解导致它始终维持在一个低浓度水平。降解依赖 HIF-1 的泛素化，这是一个需要另一种基因（VHL 基因）表达产物参加的过程。该基因有缺陷的人只具有一个可以正常工作的 VHL 基因，一旦随机的基因突变将这个正常工作的基因破坏，将产生双基因缺陷的细胞，导致罕见的希佩尔-林道病。患者的细胞即使在有氧状态下也会累积大量 HIF-1，引起 VEGF 的持续过量表达，最终导致血管细胞瘤——一种含有致密血管物质的肿瘤。因为过量的血管提供了过多的营养物质，这将进一步刺激突变细胞自身产生更多的 VEGF，造成恶性循环，加速肿瘤生长。VHL 基因的缺失除导致成血管细胞瘤，还可以诱发其他肿瘤，后者的产生机制可能和血管发生无关。

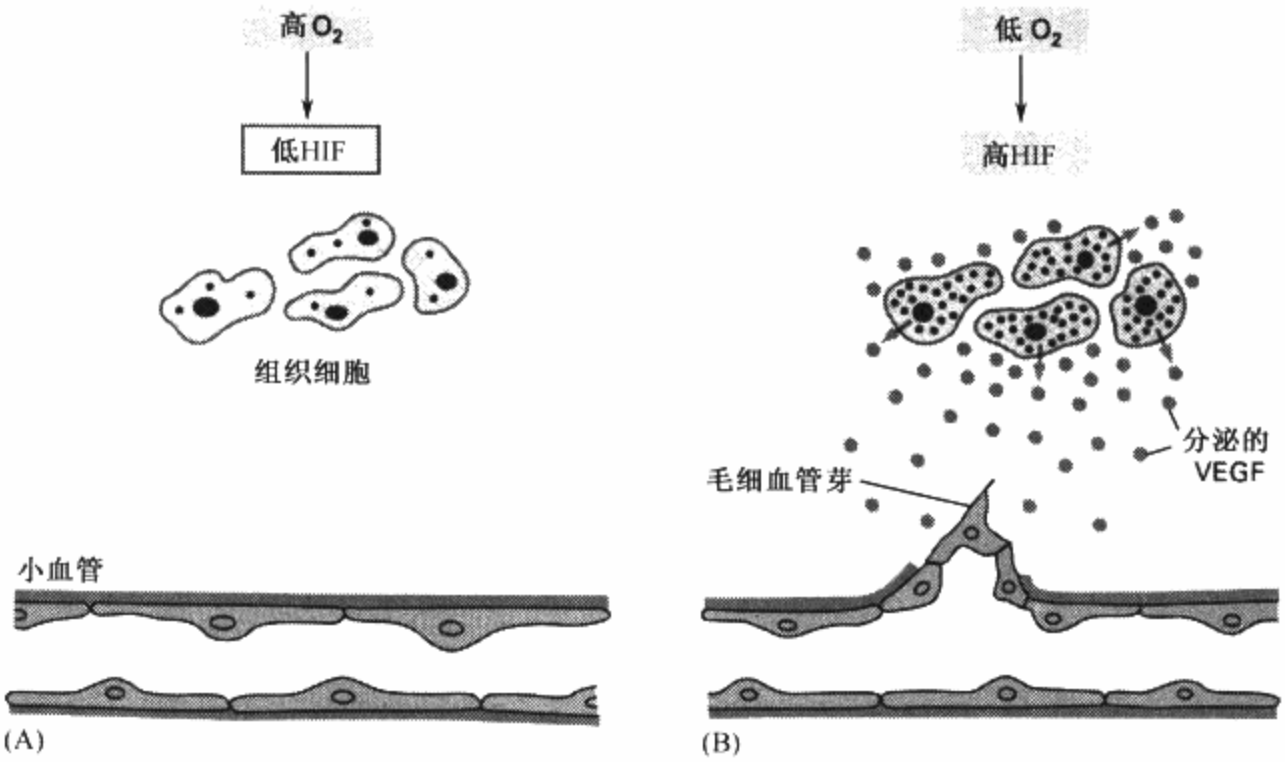


图 22-28　调节机制根据组织对氧的需求控制血管的生长

缺氧引起 VEGF 的分泌，刺激血管再生

小结

内皮细胞形成单层细胞内皮排布于所有血管的腔面，并且调节着血流和其周围组织间的交流。内皮细胞发出的信号促使形成血管壁的结缔组织细胞生长和发育。新生血管通过内皮细胞的向外生长和中空管腔的形成，从前已存在的小血管的管壁上发生。内皮细胞甚至可以在体外培养的条件下形成中空的毛细血管。正在发育的动脉和静脉的内皮细胞表达不同的细胞表面蛋白，这可能对它们的连接形成毛细血管床起到了控制的作用。

一种稳态机制确保血管可以渗透到机体的各个区域。缺氧的细胞提高缺氧诱导因子 1（HIF-1）的浓度，以刺激血管内皮生长因子（VEGF）的表达。VEGF 作用于内皮细胞，导致它增殖并侵入低氧组织，产生新的血管为其提供氧气。

多能干细胞的更新：血细胞的形成

血液中含有不同功能的多种细胞，从负责氧气的运输到负责抗体的产生。一些细胞只在血管系统内行使功能，另一些则利用血管系统将其运输到别处发挥功效。但所有血细胞的生

命历程都有一定的相似性：它们的生命周期短暂，因而在动物有机体内将被不断制造更新；值得一提的是，所有的血细胞归根结底都是由骨髓中的一个干细胞产生的。这个造血干细胞是多能的，产生各种终末分化的血细胞类型和其他一些细胞类型，如骨髓中的破骨细胞，这在下文将进一步讨论。

血细胞可以分为两类：红细胞和白细胞（图 22-29）。**红细胞**只存在于血管内，负责运输结合在血红蛋白上的 O_2 和 CO_2。**白细胞**负责消灭感染源或吞噬和消化机体内的废物碎屑。和红细胞不同，白细胞必须横穿小血管管壁，迁移到其他组织中完成使命。除此之外，血液中还含有大量**血小板**。它们并非完整的细胞，而是一种称为巨核细胞的大细胞的周细胞质碎屑或“微细胞”。在受到损伤的血管内，血小板会特异性地黏附在受损处的内皮细胞上，帮助伤口的修复、协助凝血过程的发生。

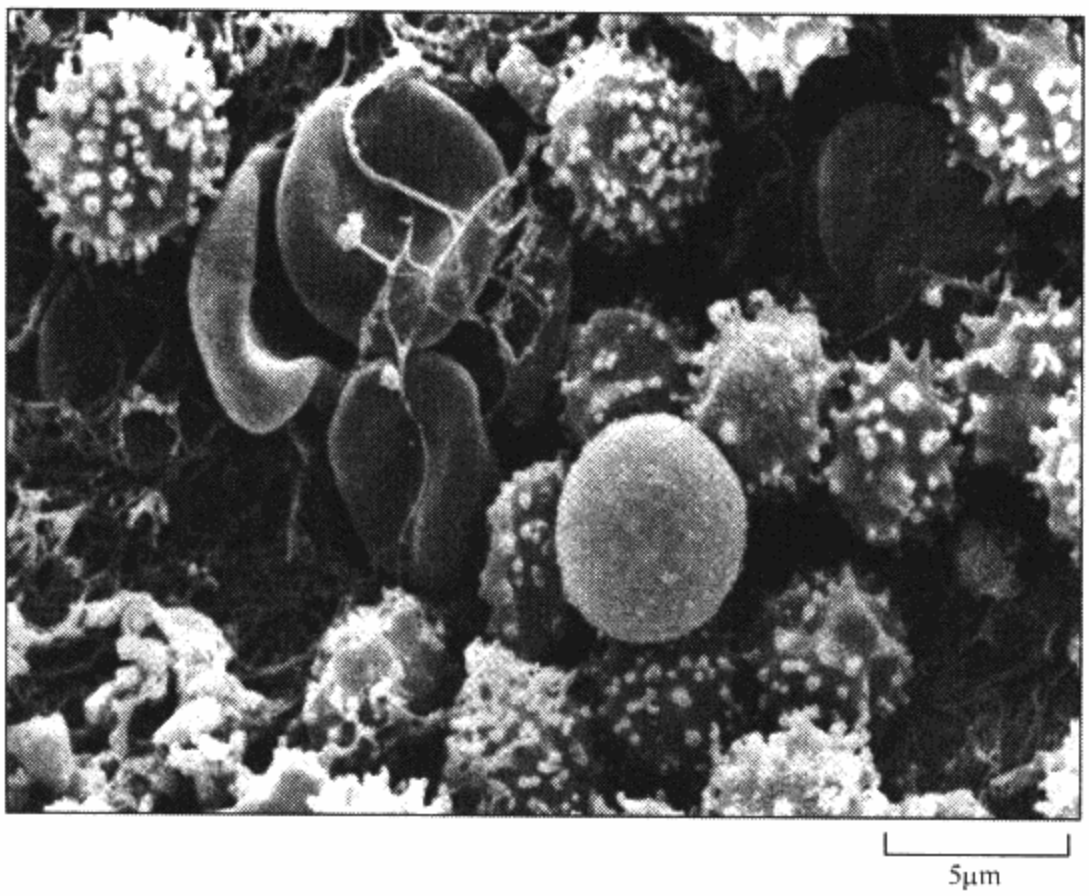


图 22-29　哺乳动物血凝块中的血细胞扫描电镜照片

较大、较圆并且表面粗糙的细胞是白细胞；较平、较光滑的细胞是红细胞（经 Ray Moss 允许）

三种主要的白细胞：粒细胞、单核细胞和淋巴细胞

所有红细胞在成熟的过程中都遵循同样的发育模式，血小板也是这样。但是白细胞却有许多不同的类型。白细胞根据它们在光学显微镜下的形态习惯上分为三种：粒细胞、单核细胞和淋巴细胞。

粒细胞含有大量的溶酶体和分泌小泡（或颗粒），可以根据这些细胞器的形态学和染色差异将其分成三个亚类（图 22-30）。染色的差异反映了化学性质和功能的差异。嗜中性粒细胞（由于具有多叶核因而又称多形核白细胞）是最常见的粒细胞，它们可以吞噬并杀死微生物，尤其是细菌，所以在针对细菌感染的先天性免疫中发挥着重要的作用（讨论见第 25 章）。嗜碱性粒细胞分泌的组胺（在一些种中是血清素）介导炎症反应，它们的功能和肥大细胞极其相关。后者位于结缔组织中，也是从造血干细胞分化而来。嗜酸性有助于杀灭寄生虫并调节过敏性炎症应答反应。

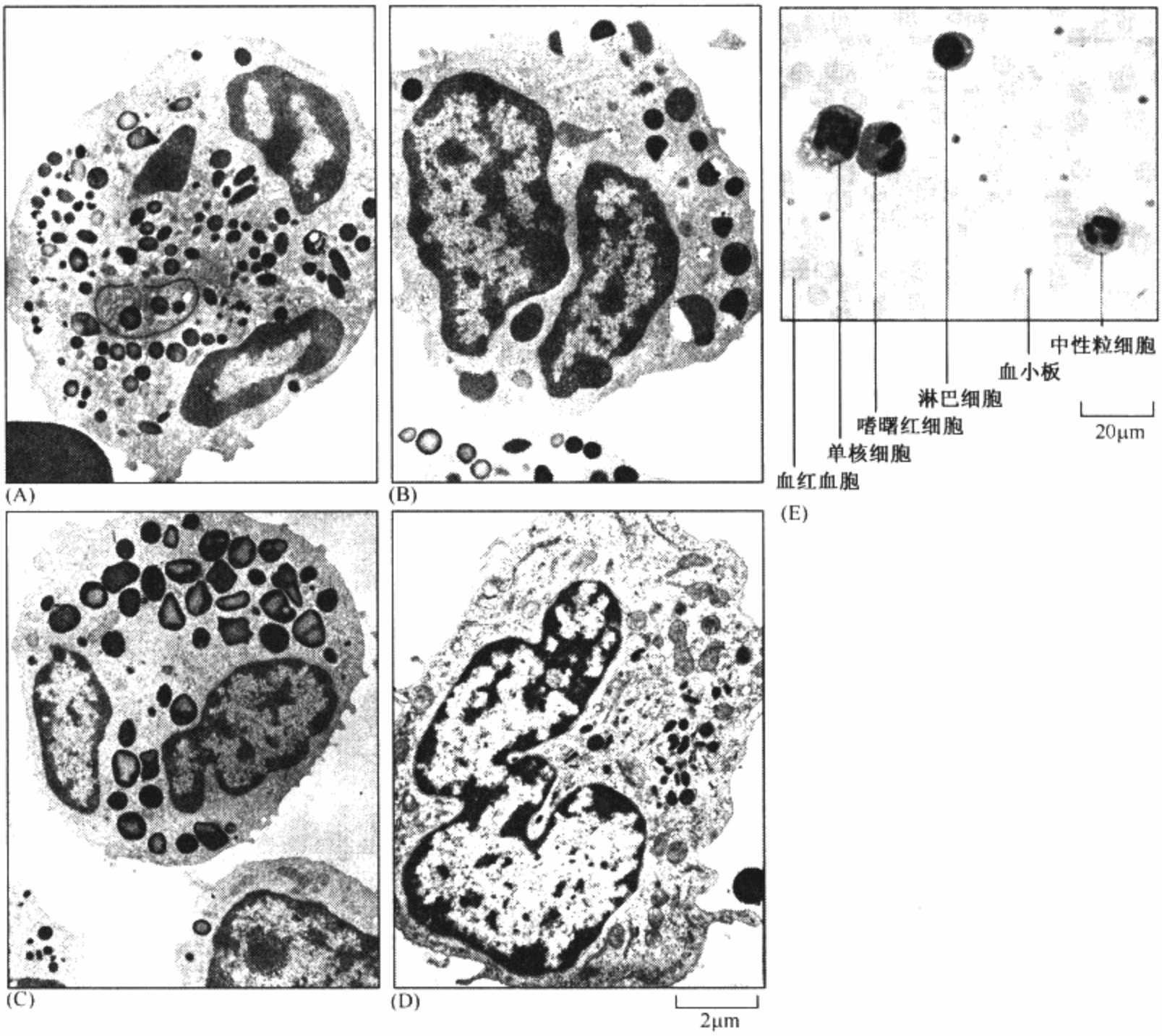


图 22-30　白细胞

（A）～（D）这些电镜照片显示（A）中性粒细胞，（B）嗜碱性粒细胞，（C）嗜酸性粒细胞，（D）单核细胞。图 24-7 为淋巴细胞的电镜照片。此处显示的每种细胞都具有不同的功能，表现在所含的分泌性颗粒和溶酶体类型不同。每个细胞中仅有一核，但其形状呈不规则的叶状。（A）、（B）和（C）中各叶间的连接处于截平面以外。（E）血涂片的光镜照片，Romanowsky 染色使白细胞深染而特别突出［（A）～（D）摘自 B. A. Nichols et al.，*J. Cell Biol.* 50：498～515. 1971. © The Rockefeller University Press；（E）经 David Mason 允许］

单核细胞［图 22-30（D）］一旦离开血液，将变成成熟的**巨噬细胞**。巨噬细胞和噬中性粒细胞是体内主要的“专职吞噬细胞”。正如第 13 章所述，两种吞噬细胞都含有特殊的溶酶体，可和新近生成的吞噬小泡（或吞噬小体）融合，使被吞噬的微生物暴露在富含超氧化物（O_2^-）、次氯酸（HOCl，漂白剂中的活性成分）等酶产生的高活性分子以及溶酶体水解酶浓缩混合物的环境中。不过，巨噬细胞要比嗜中性粒细胞大得多、寿命也长得多。它可以识别和清除很多组织中衰老、死亡和被破坏的细胞，并且是唯一可以吞噬像原生动物这样大的微生物的细胞。

单核细胞也可以产生树突状细胞，如表皮中散在的朗格汉细胞。树突状细胞和巨噬细胞一样，也可以摄入异物和外源有机体的移动细胞，但是它的主要任务并不是吞噬外源物质而是作为呈递者将外源抗原呈递给淋巴细胞，从而引起机体免疫应答。例如，朗格汉细胞在表

皮中摄入外源抗原并将其携带至淋巴结，将抗原呈递给淋巴细胞。

淋巴细胞主要可分为两种，它们都和免疫应答有关：B 淋巴细胞产生抗体，而 T 淋巴细胞杀灭病毒感染的细胞并调节其他白细胞的活动。此外，还有一种称作天然杀伤（NK）细胞的淋巴样细胞，可杀灭一些种类的肿瘤细胞和病毒感染细胞。淋巴细胞的产生将作为专门的一章在第 24 章具体讨论，本章我们主要关注**髓样细胞**的发育过程。

表 22-1 总结了血细胞的各种类型及其功能。

表 22-1　血细胞

细胞类型	主要功能	人血液中的一般浓度/(个/L)
红细胞	运送 O_2 和 CO_2	5×10^{12}
白细胞		
粒细胞		
嗜中性粒细胞（多形核白细胞）	吞噬和消灭入侵细菌	5×10^{9}
嗜酸性粒细胞	杀灭寄生虫并调节过敏炎症应答	2×10^{8}
嗜碱性粒细胞	在特定的免疫反应中释放组胺（某些物种中为血清素）	4×10^{7}
单核细胞	成为组织巨噬细胞，吞噬杀灭入侵的微生物、外源机体和损毁的衰老细胞	4×10^{8}
淋巴细胞		
B 淋巴细胞	产生抗体	2×10^{9}
T 淋巴细胞	杀死被病毒感染的细胞并且调节其他白细胞的活动	1×10^{9}
自然杀伤细胞（NK 细胞）	杀死被病毒感染的细胞和一些肿瘤细胞	1×10^{8}
血小板（骨髓中巨核细胞产生的细胞碎片）	引发血液凝结	3×10^{11}

注：人体具有大约 5L 血液，占人体重量的 7%。红细胞占总血液体积的 45%，而白细胞仅占 1%，其余为液态血清。

骨髓中每种血细胞的产生受到分别调控

大多数白细胞都在血液以外的其他组织行使功能，血液负责将它们运送到需要的地方。例如，任何组织局部的感染或损伤都能迅速地将白细胞吸引至患处，发生炎症应答，从而抵御感染并愈合伤口。

炎症应答是一个十分复杂的过程，被肥大细胞、神经末梢、血小板和白细胞产生的各种信号分子和补体的激活过程调节（讨论见第 24 章和第 25 章）。其中的一些信号分子作用于患处邻近的毛细血管，使它们的内皮细胞彼此间粘连的紧密度降低而和经过的白细胞表面的黏着性增强。这样，白细胞就像被粘在捕蝇纸上的苍蝇那样附着在毛细血管内皮上，然后再从内皮细胞间挤出并在消化酶的帮助下缓慢横穿基膜，最终离开血管。白细胞和内皮细胞的最初黏着需要归巢受体选择蛋白的帮助，而若要白细胞横穿血管，则必须有进一步更强的黏附，这需要整联蛋白的介导（图 19-30）。另一些信号分子被称作化学增活素，它们由被损坏和发炎的组织或局部内皮细胞分泌，是特定类型白细胞的化学引诱物。它们可引起相应白细胞极化并向着释放引诱物的源头缓慢移动。这样，大量的白细胞就可以进入患处组织（图 22-31）。

在炎症应答反应过程中还会产生另一些信号分子，它们被释放到血液中，刺激骨髓产生更多白细胞并将它们释放到血液中。骨髓之所以成为这些信号分子调节的主要目标，是因为

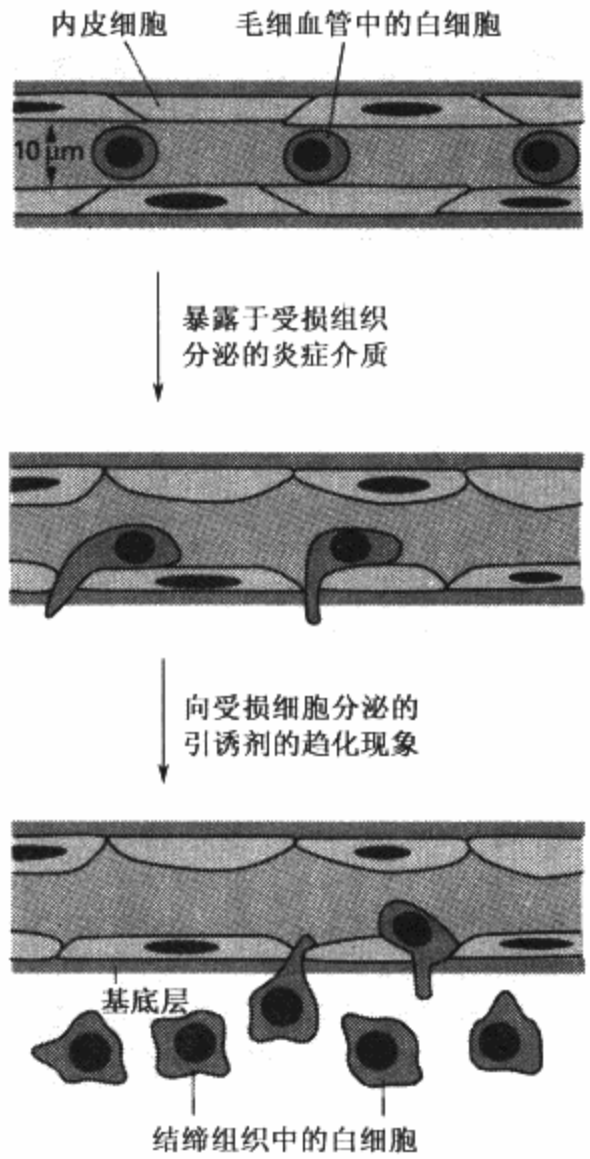


图 22-31　炎症应答时白细胞迁移离开血液

应答由细胞（主要存在于结缔组织）或补体激活过程产生的多种局部信号分子引起。其中一些信号分子作用于毛细血管内皮细胞，使它们彼此间变得松散以使毛细血管的通透性增强。同时内皮细胞被激活表达选择蛋白，即一种特异性识别血液白细胞表面糖类分子的细胞表面分子，从而使白细胞粘连在血管内皮上。另一些信号分子称为趋化因子，由发炎组织和局部内皮细胞分泌。它们行使化学引诱剂的功能，引起粘连在内皮上的白细胞从毛细血管内皮细胞间穿过进入组织

除了淋巴细胞和某些巨噬细胞以外，成年哺乳动物大多种类的血细胞都只在骨髓中产生。而且，血细胞生产的调控是具有种类特异性的。例如，一些细菌的感染引起嗜中性粒细胞的选择性增加，而一些原生动物和其他寄生虫的感染则引起嗜酸性粒细胞的选择性增加（根据这个原理，内科医生通常用不同种类的白细胞计数来对传染性疾病和其他炎症类疾病进性辅助诊断）。

红细胞的生产量在一些条件下也可以选择性地增加，一个人到氧气稀薄的高海拔地区生活时经历的环境适应过程就是其中一种情况。因此，造血过程是一个被复杂调控的过程，每一种血细胞的生产都被分别调节以适应变化的需要。了解这些调控机制如何进行是一个很重要的医学课题，近年来这一领域的研究已经有了很大的进展。

对于正常无损伤的动物，研究其造血过程要比研究像皮肤表皮层这样的组织的细胞更新过程困难，因为表皮具有简单而有规律的空间构造，所以更容易跟踪其更新过程并将其干细胞定位。但这对于造血组织是不可能的。不过，造血细胞的游离生活方式使它们更适于其他实验研究方法：弥散的造血细胞不但容易获得，而且可以毫无损伤地轻易从一个动物转移给另一个动物体内。另外，每个细胞及其后代的增殖分化都可以在体外培养的条件下观察和分析，大量分子标记也用于区分分化的不同阶段。基于这些因素，人们目前对调控血细胞生产的分子的了解要比调控哺乳动物其他组织细胞生产的分子多得多。

骨髓中含有造血干细胞

通过常规的染色方法可以识别骨髓中不同类型的血细胞和它们最直接的前体（图 22-32）。它们和脂肪细胞、基质细胞（结缔组织细胞）相互混杂，基质细胞产生一个由胶原纤维和其他细胞外基质成分共同组成的支持网状组织。此外，整个骨髓中充满薄壁血管，又称为血窦。新生血细胞就是通过它们被排放出骨髓。骨髓中还有巨核细胞。和其他血细胞不同，**巨核细胞**最显著的特点之一是它的体积巨大（直径达到 60μm）且拥有一个多倍体细胞核。此外，在成熟后它仍然存留在骨髓中，一般靠近血窦旁。巨核细胞不断地在血窦内皮的小孔处伸展产生突起，血小板就是从这些突起上掐断掉落被收集入血液中（图 22-33）。

由于骨髓内的细胞排布相当复杂，除了确定每种成熟血细胞的前体细胞，很难在组织水平来划分它排布。但是在任何明显的分化开始之前，这些仍处于发育初期的前体细胞在形态上极其相似。即使各个类型的细胞是按一定秩序分布的，也没有任何可观测的特征帮助我们

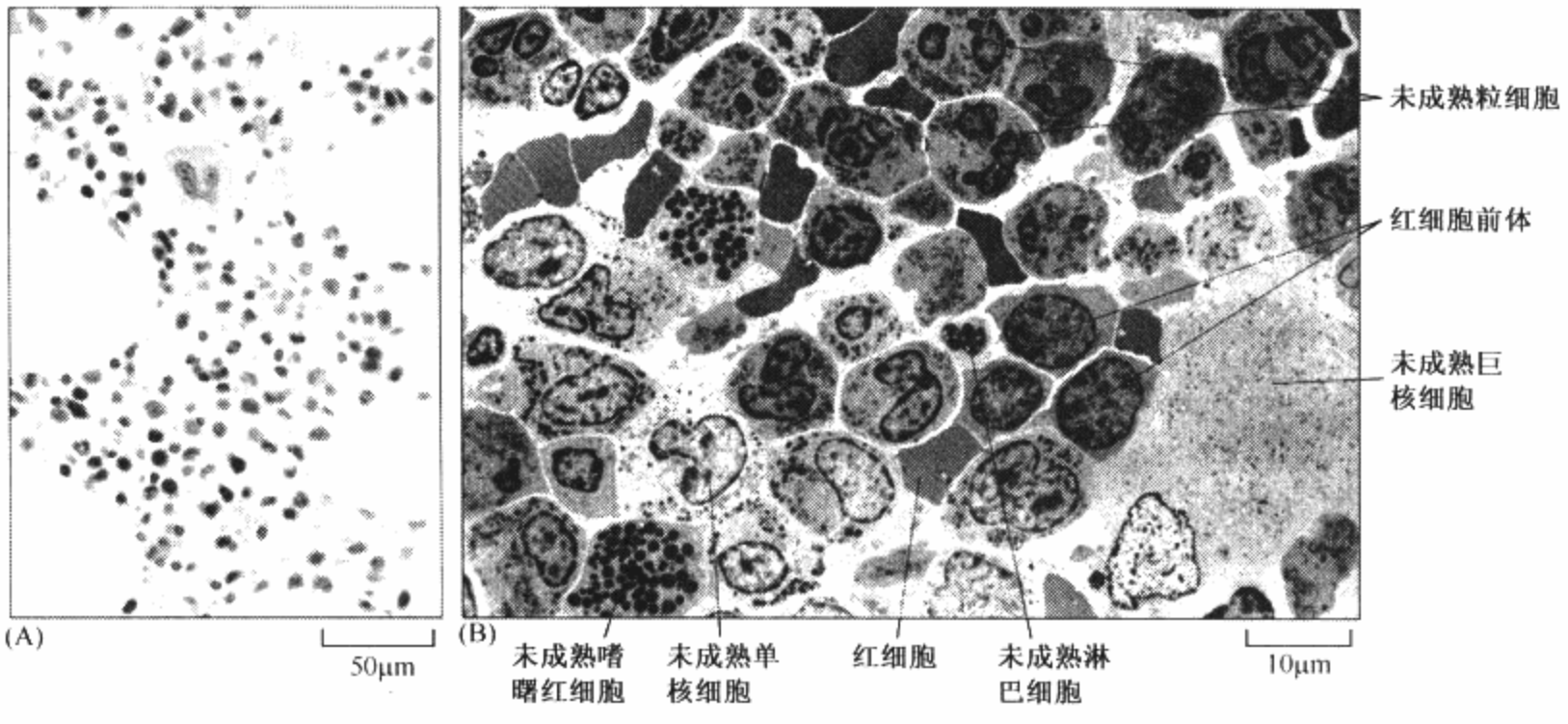


图 22-32　骨髓

（A）切片染色的光学显微镜照片。大量的空白空间对应于脂肪细胞，其脂肪成分已经在样品处理过程中被溶去。据叶状核的巨细胞是巨核细胞。（B）低放大倍数电子显微镜照片。骨髓是新生血细胞的主要来源（除由胸腺产生的 T 淋巴细胞外）。注意特定类型的血细胞倾向于聚集成“家族簇”[（A）经 David Mason 允许，（B）摘自 J. A. G. Rhodin，Histology：A Text and Atlas. New York：Oxford University Press，1974]

识别最初的干细胞。为了鉴别干细胞并确定它们的特征，需要进行功能分析，这包括跟踪每个细胞的后代。下文将看到，在体外培养条件下我们可以通过检测单细胞形成的集落来鉴定干细胞。通过操纵造血系统，还可以在完整的动物体内识别这些细胞集落。

当动物暴露在大量的 X 射线下后，其体内大多数造血细胞都将被杀灭。失去造血能力的动物在几天内就会死亡。但如果从健康的、免疫相容的供体动物抽取一定量的骨髓细胞输入到这些动物体内，它们就可获救。因为有一些骨髓细胞可以最终定居在遭受辐射的宿主体内并永久向其提供造血组织细胞（图 22-34）。这类实验证明骨髓含有造血干细胞，也展示了分析造血干细胞是否存在的方法，以便进一步发现它区别于其他细胞的分子特征。

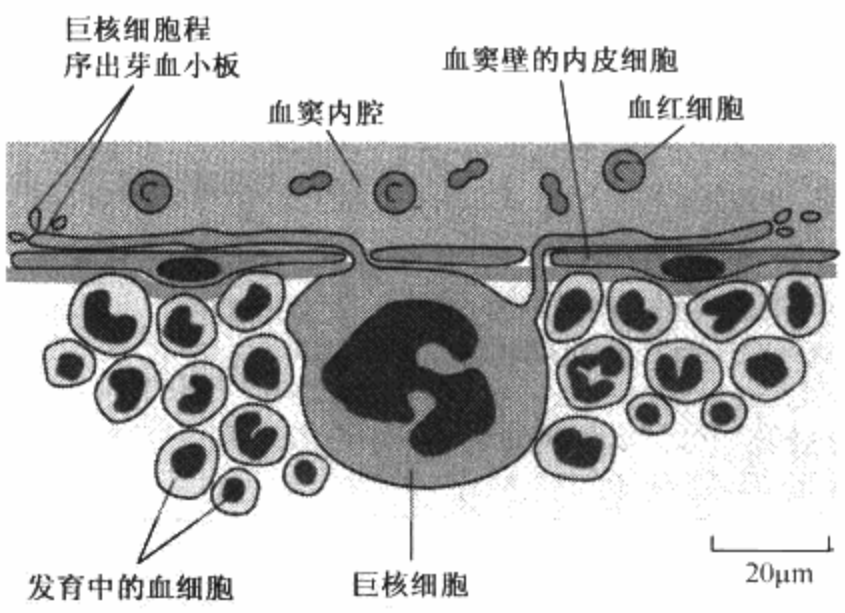


图 22-33　骨髓中处于其他细胞中的巨核细胞

多倍体核导致它体积巨大。一个巨核细胞大约产生 10 000 个血小板。巨核细胞形成长突起，从血管壁孔伸入接界的血窦中，血小板即从长突起上分离下来

为了实现上述目标，根据骨髓细胞的表面抗原借助荧光激活细胞分类器对其进行分类，然后将已分类的不同骨髓细胞组分输入接受了辐射的鼠体内。如果输入某一组分的鼠存活，那么这一组分中一定含有造血干细胞。这种方法已经证实造血干细胞具有一组细胞表面蛋白的特殊组合，因而通过适宜的分选可以得到纯净的干细胞样本。结果发现造血干细胞只占骨髓细胞群体中极微小的一部分：大约 10 000 个细胞中有一个造血干细胞，但是这已经足够了。向造血功能缺陷的鼠体内仅注入 5 个造血干细胞就足以重构其整个造血系统，产生全套各种血细胞和新的干细胞。

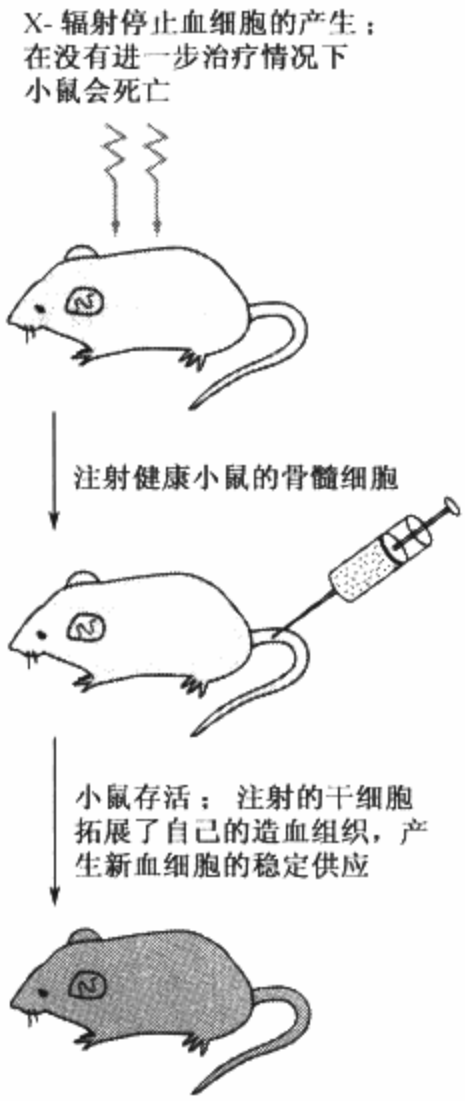


图 22-34　通过骨髓细胞输入治疗经辐射的小鼠

相似的过程用于通过骨髓移植治疗人类白血球过多症。X 射线辐射停止血细胞的产生，如果不给予治疗，小鼠死亡。给小鼠注射来源于健康供体小鼠的骨髓细胞，小鼠存活；注入的干细胞移居受体造血组织并稳定产生新的血细胞

所有类型的血细胞都由多能干细胞产生

若想知道一个**造血干细胞**究竟可以产生多少种类型的细胞，就必须找到一个追踪其后代命运的方法。如果我们能在遗传水平上标记每个干细胞，那么即使它们的后代已经被释放到了血液中，也能够被识别出来。虽然已尝试过多种方法，但最好的方法是利用一个专门设计的反转录病毒（携带一个标记基因的反转录病毒载体）。和其他反转录病毒一样，这个标记病毒可以将它自身的基因组插入到它所感染的细胞染色体中去，但是可让其产生新的可感染病毒颗粒的基因除去。因此，标记将在被感染的细胞中确定下来并且传递给细胞的后代。这样，由于病毒插入的染色体上的位点不同，两个细胞的后代就可以被区分开了。为了分析造血干细胞的细胞谱系，首先在体外用反转录病毒载体感染骨髓细胞，然后再将感染后的细胞输入经过致死量辐射照射的实验动物体内；用 DNA 探针追踪宿主各种造血组织和淋巴组织内每个被感染细胞的后代。这些实验结果说明每个造血干细胞都是多能的，可以产生一整套完整的血细胞：髓细胞样的或淋巴细胞样的，以及像它那样的干细胞。

和鼠实验同样的方法现在可用于治疗人类的疾病。辐射杀灭了鼠全身的造血干细胞，通过注射新的干细胞，鼠又得以存活。根据相同的原理，非白血性白血病的患者可以先通过放疗或化疗杀灭癌细胞和其余造血组织，然后再通过输入不含引发癌症突变因素的造血干细胞被拯救。这些健康的造血干细胞可以从免疫相容性的供体得到或者从白血病患者患病前提取的自身骨髓样本中得到（图 22-35）。

相同的技术在理论上也为基因治疗的一种形式开辟了道路：造血干细胞可在体外分离培养，通过 DNA 转染或其他引入目的基因的技术从遗传水平上进行修饰，然后将修饰过的细胞输入到缺乏此目的基因的患者身上，这样就为缺失的基因提供了一个自我产生更新的源头。

血细胞的定型是分步进行的

在分化过程中造血干细胞不是从多能干细胞阶段一下跳到终末分化的定型阶段，而是经历了一系列循序渐进的环节。造血干细胞首先分化为骨髓样祖细胞或淋巴样祖细胞，前者可以产生大量各种骨髓细胞，或者骨髓细胞和 B 淋巴细胞；后者产生以 T 淋巴细胞为主的大量各种淋巴细胞。祖细胞再经一定步骤形成仅产生单一细胞类型的母细胞。特定基因调节蛋白表达的变换和定型的分步过程有很大关系，因而对于不同血细胞亚型的生产十分必要。这些特定蛋白质的作用往往错综复杂。例如 GATA-1 蛋白，它既是红细胞成熟的必要条件，又在造血过程的最初阶段异常活跃。

“定型”在分子水平上对应的事件目前尚不完全清楚，但可以肯定至少包括两个方面：和该细胞分化方向相关的基因开启，和其他分化方向相关的基因关闭。虽然这两个过程一般是

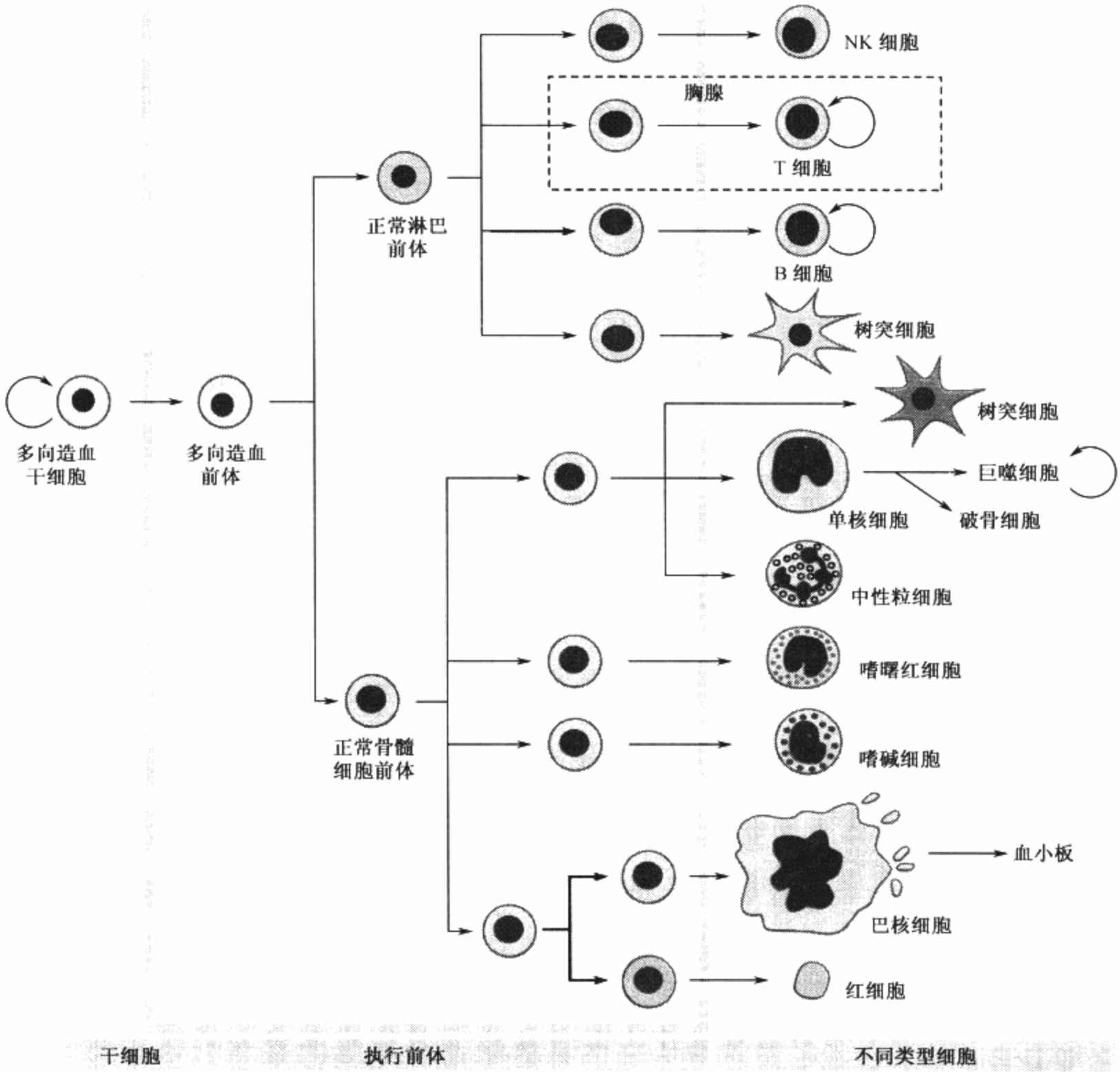


图 22-35　血细胞生成的假设图解

多能干细胞正常情况下较少分裂产生更多可自我更新的多能干细胞或者可在分化成成熟血细胞之前具有限次分裂能力的定型祖代细胞。当祖细胞进行分裂时，它们产生的细胞类型越来越特化，正如细胞谱系模式图中灰框内部的分支所示。但是，谱系图中这一部分的很多细节仍存在争论。

在成年哺乳动物中，除在胸腺中产生的 T 淋巴细胞以及来源于血液单核细胞的巨噬细胞和破骨细胞之外，所有血细胞都主要在骨髓中产生。一些树突细胞可能也起源于单核细胞。肥大细胞（未显示）起源于在血液中循环的嗜碱性粒细胞

同时进行的，但是突变体研究表明它们是根本不同的。缺乏基因调节蛋白 Pax5 的动物会在产生成熟的 B 淋巴细胞的途径中受阻，即祖细胞可以进行某些起始步骤但最终不能产生 B 细胞。正常的祖细胞完成这些起始步骤后，无论什么条件也不能诱导其产生除 B 淋巴细胞以外的血细胞。但是 Pax5 缺陷的祖细胞却没有这种限制：将它们暴露在适宜的条件下便可以产生其他类型的血细胞，包括 T 淋巴细胞、巨噬细胞和粒细胞。这是因为 Pax5 蛋白不仅用于激活 B 淋巴细胞发育所需要的基因，还用于关闭其他血细胞发育途径涉及的基因。

定型祖代细胞的分裂使特化血细胞的数量扩增

造血祖细胞决定自身特殊的分化方向后，将会经历一个长期的增殖过程直至终末分化。在此期间，这些已经决定了分化方向的定型祖代细胞进行多轮细胞分裂来扩大其所分化的特定类型细胞数目。通过这种扩增的方式，一个干细胞就可以产生上千个分化后代，这就是为什么干细胞只占全体血细胞总数很小一部分的原因，也是为什么在干细胞分裂速度很低的情况下，血细胞的生产速度仍能维持在一个较高水平的原因。实际上，包括表皮、消化道和造血系统在内的一些组织的干细胞都具有分裂次数少的特点。定型祖代细胞的扩增分裂减少了干细胞在生命进程中必须完成的分裂周期数，因而降低了它的复制老化和有害突变的风险。

定型过程的分步性意味着造血系统可以看作是细胞的分级系统树。多能造血干细胞产生定型祖代细胞，每个定型祖代细胞专门产生一种或几种血细胞。定型祖代细胞分裂迅速，但是只能进行有限次数的分裂，直至成为不具分裂能力的终末分化细胞，几天或几周后死亡，此外，还有很多细胞在定型途径的初期就死去了。体外培养研究为揭示造血细胞的增殖、分化和死亡的调控机制提供了一种方法。

干细胞依赖基质细胞发出的接触信号

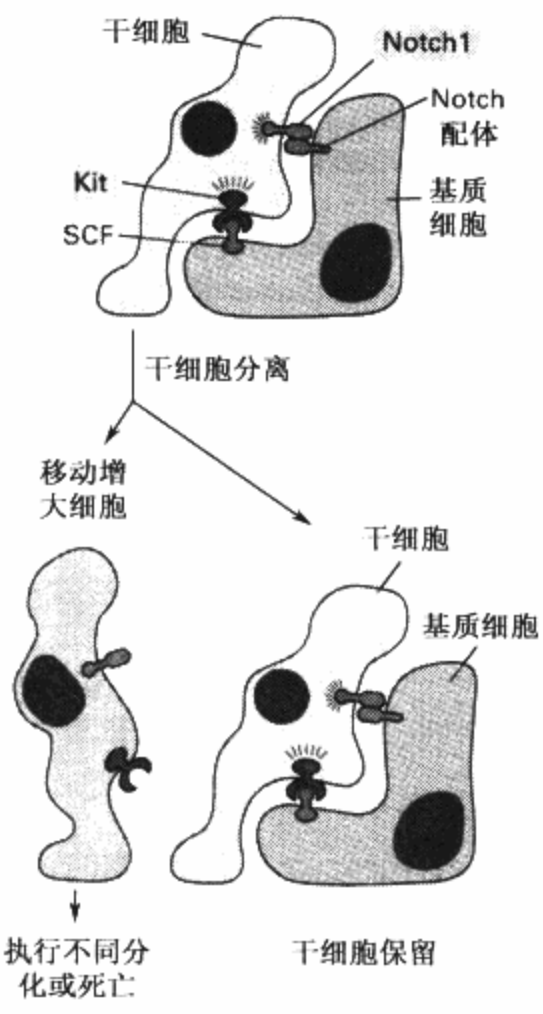


图 22-36　造血干细胞依赖和基质细胞的接触

图片显示了造血干细胞依赖的两种信号机制，两种机制都已经有一些证据支持。实际的系统一定更加复杂；造血细胞对基质细胞接触的依赖并不是绝对的，因为已发现少量功能干细胞是游离在循环系统中的

当且仅当提供特定的信号蛋白或是和产生这些信号蛋白的细胞共培养时，造血细胞才能在体外培养的条件下存活、增殖和分化。反之，如果没有这些蛋白质的提供，细胞将会死亡。和适宜的支持细胞相接触对于细胞的长久保持也是必需的。如果模仿体内正常骨髓的环境，把体外培养的骨髓造血细胞分散置于一层骨髓间质细胞上，就可以在体外保持几个月甚至几年。这种培养可以产生所有类型的骨髓细胞，这些细胞的长期保存说明干细胞和它们的分化后代都是不断被产生的。

这样在体外培养和体内环境中就一定存在一些机制来保证一些干细胞的后代分化，另一些则仍保持干细胞状态。这种决定细胞命运的机制目前看来和接触的间质细胞分泌的特定信号分子有部分关系。造血干细胞需要这些信号分子来维持未定型的状态，就像表皮干细胞需要和它们相接触的基膜产生的信号分子一样。在这两种系统中，干细胞好似被限定在一个独特的小生境中，一旦它们脱离了这一生境，就丢失了干细胞的潜能（图 22-36）。

虽然一些分泌的和细胞表面附着的信号分子已经被发现，但是间质细胞提供的关键信号分子还不确定。例如，包括干细胞在内的造血前体细胞可在细胞膜上展示跨膜受体 Notch1，而骨髓间质细胞则表达 Notch 配体。并且有证据证明 Notch 的激活有助于干细胞和祖细胞维持现状避免分化（讨论见第 15 章）。

通过分析一种具有复合缺陷——缺红细胞（贫血）、缺卵细胞（不育）和缺色素细胞（皮肤上有白斑；见图

21-81）的鼠突变体，另一种对维持造血过程十分重要的接触作用逐渐明朗。正如第 21 章所讨论，这种病症是由于以下两种基因其中之一突变所致：编码受体酪氨酸激酶的 *c-kit* 和编码前者配体干细胞因子（SCF）的 *Steel*。所有突变影响的细胞类型都是从迁移前体细胞衍化而来的，如果这些前体细胞想生存下来并且产生正常数量的后代，它们必须表达受体（Kit）并且置于具有配体（SCF）的环境中。研究缺陷鼠又表明只有膜结合 SCF 才能发挥功效，这说明表达 Kit 受体蛋白的造血细胞和表达 SCF 的间质细胞之间的细胞间直接接触是正常的造血作用所必需的。

调节造血的因子可以通过体外培养进行研究

干细胞的后代并不需要像其母体那样如此依赖间质细胞的接触。因此，分散的骨髓造血细胞可以在低浓度琼脂或甲基纤维素和一些细胞因子（产生这些因子的细胞可以直接人工加入培养基中）组成的半固体培养基中培养。由于半固体培养基中的细胞不能迁移，因此每个前体细胞的后代会聚集在一起形成易识别的克隆（无性繁殖系），例如，单个中性粒细胞的定型祖细胞可以产生上千个中性粒细胞组成的克隆。此培养体系为分析支持造血过程的因子、进行纯化并进一步探索其作用提供了一条途径。这些因子都是糖蛋白，称作**集落刺激因子（CSF）**。经过不断的纯化和鉴定，CSF 家族日益壮大，其中一些成员作为激素存于血液中流至全身，而另一些则在骨髓中充当分泌的局部调节剂，或是 SCF 那样在细胞间连接中发挥作用的膜结合信号分子。行使激素功能的 CSF 中研究最清楚的是促红细胞生成素糖蛋白，它在肾脏中产生，用于调节红细胞的生成。

红细胞的生成依赖促红细胞生成素

红细胞是血液中最常见的细胞类型（表 22-1）。当其成熟后，胞内会充满血红素但却不含正常细胞的细胞器。成年哺乳动物的红细胞甚至不含细胞核、内质网、线粒体和核糖体，这些细胞器是在红细胞发育的过程中被挤出细胞的（图 22-37）。因此，红细胞不能生长或分裂，干细胞的分化就成为产生红细胞唯一可能的途径。此外，红细胞的寿命十分有限——在人体内大约 120 天，在鼠体内大约只有 55 天。肝脏和脾脏的巨噬细胞负责吞噬消化老化失效的红细胞，在一个人体内它们每天大约清除不少于 10^{11} 个衰老红细胞。而年轻的红细胞表面具有一种可结合巨噬细胞抑制受体的蛋白质，因此可以保护自身免被巨噬细胞吞噬。

缺氧或红细胞缺乏可刺激肾脏细胞合成分泌更多促红细胞生成素，释放到血液中。红细胞生成素可刺激更多红细胞的产生。由于实验中观察到红细胞被释放到血液中的速率是在血液中促红细胞生成素水平提

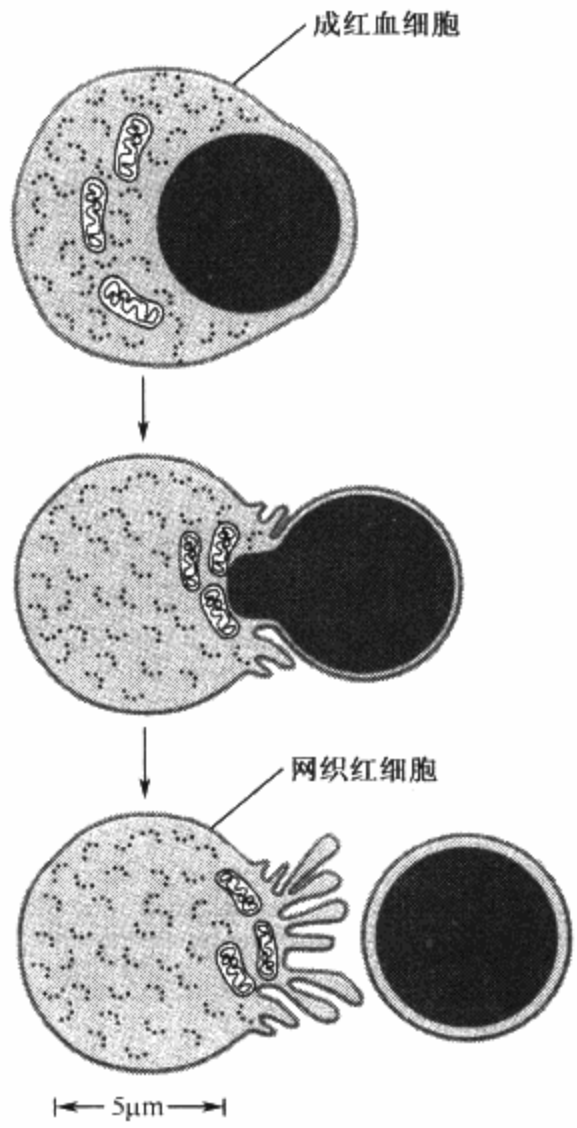


图 22-37　正在形成中的红细胞（成红细胞）
此处显示细胞挤出自身的细胞核成为一个不成熟的红细胞（网织红细胞），然后离开骨髓进入血液。1～2 天之内，网织红细胞丢掉线粒体和核糖体成为成熟的红细胞。红细胞集落在骨髓巨噬细胞的表面发展，巨噬细胞可以吞食并消化红细胞废弃的细胞核

高 1～2 天后才有所改变，因而这种激素一定是作用于成熟红细胞的最直接的前体细胞。

用含有促红细胞生成素的半固体培养基培养骨髓细胞的方法可以鉴定它作用的细胞类型。几天之内，平皿上出现大约 60 个红细胞单克隆。每一个克隆都来自一个称为红细胞集落生成细胞（CFC-E）或者细胞集落生成单位（CFU-E）的红细胞定型祖细胞，这种细胞在经过大约不到 6 次分裂后就可以产生成熟的红细胞。CFC-E 不含血红素，产生它的早期祖细胞在增殖过程中并不依赖促红细胞生成素。但是 CFC-E 却需要促红细胞生成素来维持它的生存和增殖：如果将促红细胞生成素移除，则 CFC-E 细胞将很快凋亡。

另一种集落刺激因子被称作**白细胞介素**-3（IL-3），它促进早期红细胞祖细胞的生长和增殖。在 IL-3 的作用下，体外培养的骨髓细胞在一周或 10 天左右就能发育生长出很大的红细胞集落，每一个集落大约含有 5000 个红细胞。在此条件下产生这种集落的红细胞祖细胞称作红系暴式集落形成细胞（erythrocyte burst-forming cell，BFC-E）或红系暴式集落形成单位（BFU-E）。BFC-E 细胞和多能干细胞不同，它的增殖能力比较有限，并且在使其他祖细胞产生不同类型分化血细胞的培养条件下，它仍然只能产生红细胞集落。此外，BFC-E 细胞不像 CFC-E 细胞那样对促红细胞生成素敏感，而且必须经过 12 次之多的分裂后才能产生成熟的红细胞（这个过程必须有促红细胞生成素介入）。因此认为 BFC-E 负责红细胞的分化定型，是 CFC-E 的前身。

多种集落刺激因子（CSF）影响中性粒细胞和巨噬细胞的产生

两种专职吞噬细胞（中性粒细胞和巨噬细胞）都是从**粒细胞/巨噬细胞祖细胞**发育而来的。和其他粒细胞（噬酸性粒细胞和噬碱性粒细胞）一样，噬中性粒细胞只随血液在机体内转几小时，然后就从毛细血管迁移至结缔组织或其他特异性位点，并在那里存活数天。中性粒细胞凋亡后被巨噬细胞吞噬。相比之下，巨噬细胞可以在血流之外存活数月甚至数年，某些局部因子可以激活其重新增殖。

目前至少已经鉴定出 7 种不同的集落刺激因子刺激中性粒细胞和巨噬细胞集落的形成，这些因子形成不同的组合来调节体内细胞的选择性生长。集落刺激因子被包括内皮细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、淋巴细胞在内的多种细胞合成，它们在血液中的浓度会由于细菌对组织的感染而快速升高，从而增加骨髓释放到血液中的吞噬细胞的数量。IL-3 是特异性最弱的因子之一，它可以作用于多能干细胞和大部分定型祖细胞，包括中性粒细胞/巨噬细胞祖细胞。其他很多因子则有选择性的作用于中性粒细胞/巨噬细胞祖细胞以及它们的分化后代（表 22-2），即便在很多情况下它们也作用于造血系统树的其余分支。

表 22-2　一些影响血细胞生成的集落刺激因子（CSF）

因子	靶细胞	生成细胞	受体
红细胞生成素	CFC-E	肾脏细胞	细胞因子家族
白细胞介素3(IL-3)	多能干细胞、大多数祖细胞、很多终末分化细胞	T 淋巴细胞、表皮细胞	细胞因子家族
粒细胞/巨噬细胞 CSF(GM-CSF)	GM 祖细胞	T 淋巴细胞、表皮细胞、成纤维细胞	细胞因子家族
粒细胞 CSF(G-CSF)	GM 祖细胞和噬中性粒细胞	巨噬细胞、成纤维细胞	细胞因子家族
巨噬细胞 CSF(M-CSF)	GM 祖细胞和巨噬细胞	成纤维细胞、巨噬细胞内皮细胞	受体酪氨酸激酶家族
青灰因子(干细胞因子)	造血干细胞	骨髓基质细胞和其他很多细胞	受体酪氨酸激酶家族

所有的集落刺激因子和促红细胞生成素一样都是糖蛋白，它们结合细胞表面的特异性受体，在很低的浓度下就可发生作用（大约 10^{-12} mol/L）（讨论见第 15 章）。其中一小部分受体是跨膜酪氨酸激酶，而其余大部分都属于细胞因子受体家族。这一家族的成员通常由两个或更多的亚基组成，其中一种亚基在几种受体类型中都频繁出现（图 22-38）。集落刺激因子不仅促进细胞前体产生分化的后代，还能激活终末分化细胞的特异性的功能（如吞噬作用和靶细胞杀伤）。这些因子基因克隆的表达产物（因为是基因重组技术的产物，所以又叫做重组蛋白）对于实验动物是很强的造血刺激因子。现在这些重组蛋白已经广泛应用于临床，刺激患者造血组织的再生并增强感染抵抗力——这是基础细胞生物学研究和动物实验方法为提高内科治疗做出贡献的有力证据。

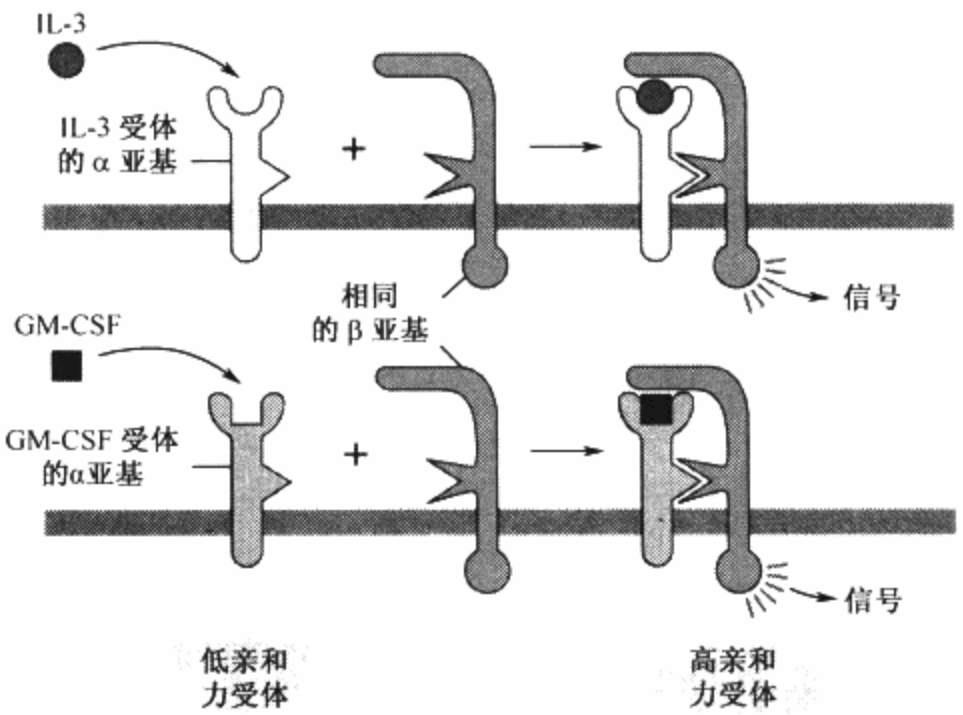


图 22-38　CSF 受体间亚基的共享

人 IL-3 受体和 GM-CSF 受体具有不同的 α 亚基和相同的 β 亚基。它们的配体被认为先以低亲和力结合游离的 α 亚基，这引起异源二聚体形成，使受体和配体的亲和力提高

造血细胞的行为具有一定的随机性

到目前为止我们还未讨论一个核心问题，集落刺激因子被定义为刺激分化的血细胞集落产生的因子。但是每种集落刺激因子对某一个造血细胞究竟会有什么具体的作用？它们可能控制祖细胞分化前细胞分裂的速度或者分裂周期数；也可能作用于促进造血过程晚期的细胞分化；还可能影响细胞定型；或者仅仅有助于提高细胞存活的可能性（图 22-39）。虽然我们仍然不清楚上述哪一项功能对机体最为重要，但是通过控制体外培养条件下单个造血细胞的命运，已经表明单一一种集落刺激因子，如粒细胞/巨噬细胞集落生长激素，可以行使所有上述功能。

体外实验表明，造血干细胞的行为具有很大的随机性。至少一些集落刺激因子并不直接向细胞发号施令，而是通过具有概率性的调节作用影响细胞。在培养造血细胞的过程中，即使尽可能挑选性质相同的同种细胞，它们形成的集落也会有很明显的大小和性质差异。如果将两个刚刚由同一母细胞产生的姐妹细胞放置在完全不同的条件下培养，它们一般都会产生含有不同血细胞的集落或是含有不同数量的同种血细胞的集落。因此，即使多细胞系统整体是受到固定方向的调节，但对于单个细胞，无论是细胞分裂的过程还是选择进入某个独特分化途径的过程都具有一定的随机性。

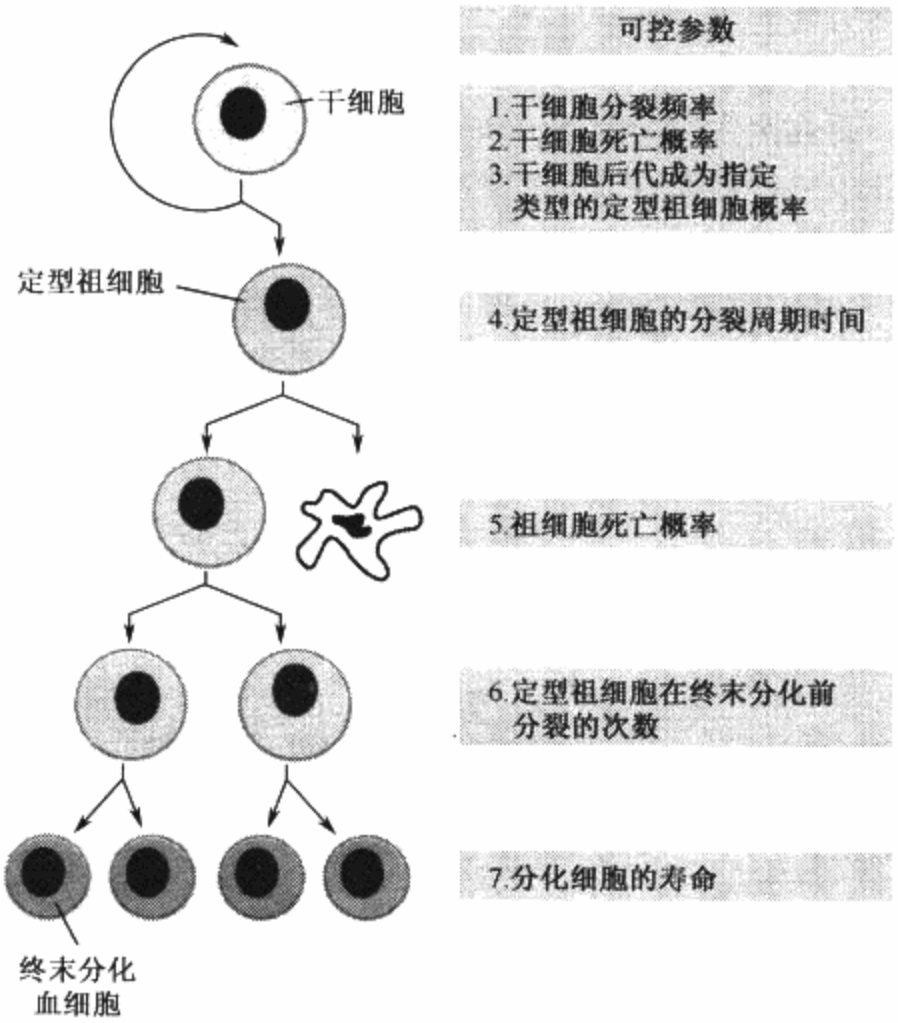


图 22-39　一些可用于调节特定类型血细胞产生的参数

体外细胞培养研究显示集落刺激因子（CSF）可以影响血生成过程的所有这些方面可控参数

细胞存活调节和细胞增殖调节同等重要

虽然上述观察说明集落刺激因子对于指导血细胞的分化途径和分裂次数并不是严格必需的，但是它对于细胞的生存是必需的。如果缺乏集落刺激因子，细胞将会选择凋亡（讨论见第 17 章）。大体上说，集落刺激因子可以通过这种方式选择性的控制细胞的生存死亡，从而在整体水平上调节不同种类血细胞的数量。已经有越来越多的证据证明细胞存活调控对于血细胞数量调节的重要性，这和已经讨论过的肝细胞及其他类型细胞的状况一样。脊椎动物造血系统中细胞凋亡的数量非常庞大，如成人体内每天约有几十亿个中性粒细胞凋亡。实际上，很大一部分产生于骨髓的中性粒细胞在还未行使功能之前就在“出生地”死亡了。这种“生产-销毁”的耗能无效循环可能是用于维持一个较高的细胞储备水平，在机体受到感染时这些细胞可被迅速大量调动进行抵御，在机体静息状态下则被吞噬和消化以便回收利用。换句话说，和整个有机体的生命相比，细胞的生命是不值钱的。

对于一个多细胞生物，过多细胞增殖而过少细胞死亡将对健康造成很大危害。在造血系统中，变异造成的细胞内凋亡抑制因子 Bcl-2 的过量表达可以抑制细胞死亡，促使 B 淋巴细胞的癌变。同时另一方面，细胞毫无限制的自我更新对整个机体也是十分危险的。例如，很多白血球过多症都归咎于定型造血前体细胞因突变获得这种无限更新的能力，而在正常情况下，它们本来应该分化并且在有限次数的细胞分裂后即死亡。

小结

多种血细胞，包括红细胞、淋巴细胞、颗粒细胞和巨噬细胞，都源自多能干细胞。在成

年个体内，造血干细胞主要存在于骨髓中。它们依赖骨髓间质（结缔组织）细胞发出的接触介导信号来维持自身的干细胞特性。干细胞一般以很低的频率产生更多的干细胞（自我更新）和多种定型祖代细胞（短暂扩充细胞），并且每个干细胞只能产生一种或很少几种血细胞。定型祖代细胞的进一步更广泛的分裂受到各种蛋白质信号分子的影响（集落刺激因子，或CSF），最终产生成熟的血细胞。这些新产生的终末分化血细胞通常几天或几周之后死亡。

对造血系统的研究得到体外分析的很大帮助，这些分析实验往往用半固体培养基培养干细胞或定型祖代细胞产生集落。实验中发现干细胞的后代在选择各种发育的方向时具有一定的随机性。由集落刺激因子调控的细胞凋亡在调节成熟分化血细胞的数量方面扮演了相当重要的角色。

骨骼肌的发生、调整和再生

“肌肉”这个词包括了多种细胞类型，它们都专职负责收缩运动但是在其他方面彼此间有所差异。正如第 16 章指出，含有肌动蛋白和肌球蛋白构成的收缩系统是动物细胞的普遍基本特征，但是肌细胞中这种结构的含量要比其他细胞高得多。哺乳动物主要拥有 4 种细胞专职于收缩运动：骨骼肌细胞、心肌细胞、平滑肌细胞和肌上皮细胞（图 22-40）。它们在功能、结构和发育上都有所不同。虽然这 4 种细胞都通过肌动蛋白和肌球蛋白构成的微丝系统产生收缩力，但是它们各自的肌动蛋白和肌球蛋白分子在氨基酸序列上、细胞内排布上都有所不同，并且和不同的蛋白质结合来控制收缩。

骨骼肌细胞负责几乎所有的自主控制运动，这种肌细胞可以长得很大（成人体内长为2～3cm，直径为 100μm），因为它们高度伸展的形态，又被称为肌纤维。每一个骨骼肌细胞都是合胞体，在同一细胞质内含有很多细胞核。而其他类型的肌细胞则一般只含有一个细胞核。**心肌细胞**有一点和骨骼肌纤维很相似，它们的肌动蛋白丝和肌球蛋白丝很规则的排列形成一系列叫做肌小节的收缩单位，使细胞看起来呈条纹状。**平滑肌细胞**则没有条纹，所以因此而得名。平滑肌细胞间的功能差异很大，从食物在消化道中的推动到寒冷和惊恐引起的毛发的竖立。**肌上皮细胞**也没有条纹，但是和其他三种肌细胞不同，它存在于上皮中并且是从外胚层衍化而来。正如前文已经讨论的那样（图 22-8），肌上皮细胞形成眼虹膜的开大肌（dilator muscle），帮助唾液、汗液和乳汁从相关腺体的排出。这 4 种主要的肌细胞可进一步分裂成不同的亚型，每一种都有自己的特征。

肌肉收缩的机制已经在第 16 章讨论，本章将涉及肌肉组织的发生和保持。我们将重点放在骨骼肌纤维，它具有独特的发育模式，惊人的调整分化特征能力和不寻常的修复机制。

新的骨骼肌纤维由肌原细胞融合产生

前面的章节描述了起源于脊椎动物胚胎早期体节的特定细胞如何成为**肌原细胞**，即骨骼肌纤维的前体。正如第 7 章讨论的，分化定型为肌原细胞至少需要依赖两个基因调控蛋白质家族——基本的螺旋-环-螺旋蛋白中的 MyoD 家族和 MADS box 蛋白中的 MEF2 家族。这两个蛋白质家族协同作用，使肌原细胞记忆自身的定型状态，并最终对赋予成熟肌细胞特殊性质基因的表达进行调控（图 7-72）。经过增殖阶段后，肌原细胞将经历一个被称为肌原细胞分化的过程，这个过程依赖一整组肌肉特异性基因的协调激活。在此期间，肌原细胞表型将发生非常大的转变，彼此融合形成多核骨骼肌纤维（图 22-41）。融合过程涉及特异性细胞间黏着分子，它们介导新分化的肌原细胞和纤维之间的识别。此外，一旦分化阶段开始，细胞核将不再复制 DNA，细胞也不再分裂。

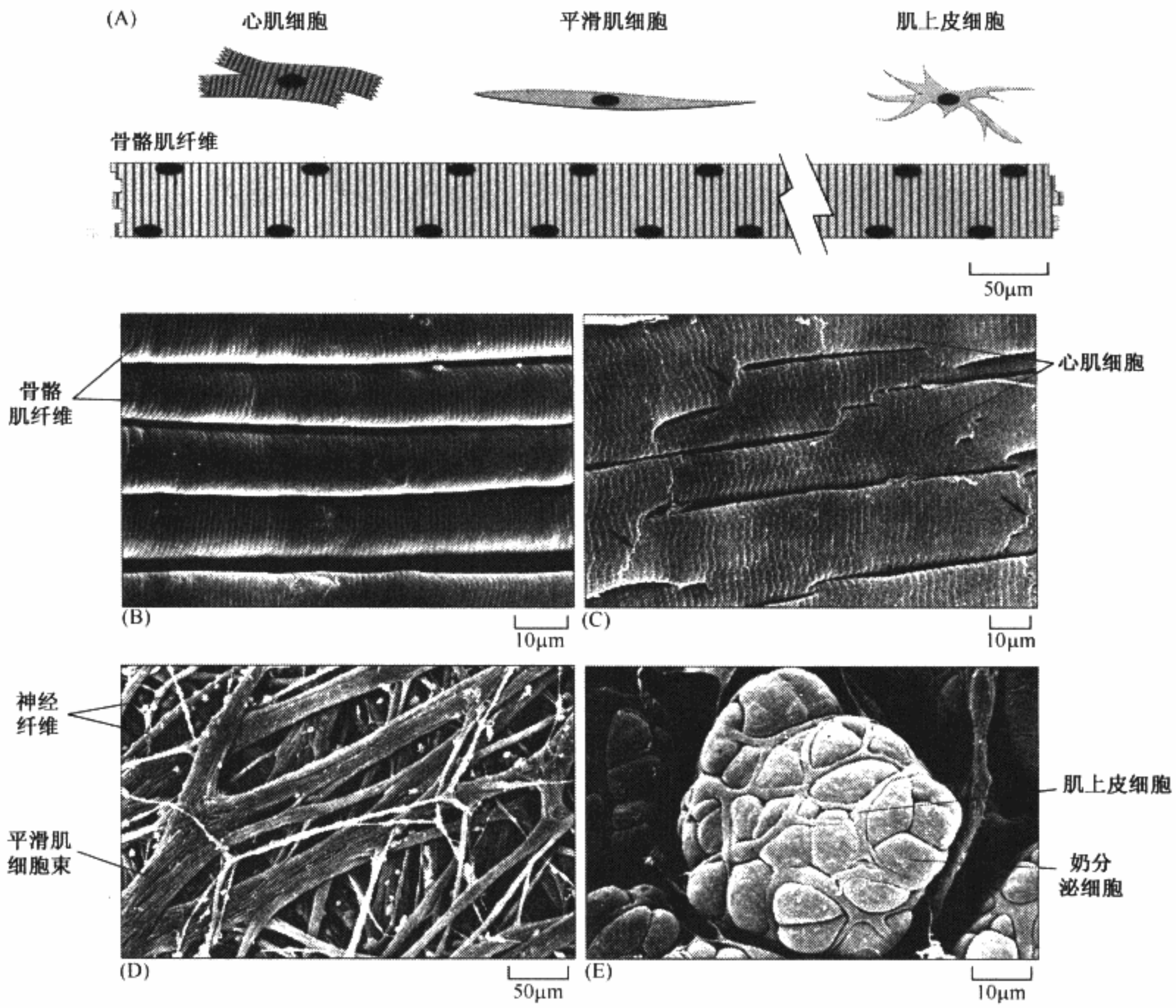


图 22-40　哺乳动物 4 种肌细胞

（A）示意图（标注比例）。(B)～(E) 扫描电镜照片，显示（B）仓鼠颈部骨骼肌，（C）鼠心肌，（D）豚鼠膀胱平滑肌和（E）鼠哺乳期乳腺分泌乳池的肌上皮细胞。(C) 中箭头指向闰盘——心肌细胞间端对端的连接；长肌中的骨骼肌细胞也以相同的方式端对端衔接。注意平滑肌细胞的放大倍数比其余几幅图低［(B) 经 Junzo Desaki 允许；(C) 摘自 T. Fujiwara，in Cardiac Muscle in Handbook of Microscopic Anatomy (E. D. Canal，ed.). Berlin：Springer-Verlag，1986，(D) 经 Satoshi，Nakasiro 允许；(E) 摘自 T. Nagato et al.，*Cell Tiss. Res.* 209：1～10. 1980. © Springer-Verlag］

在体外培养两年并持续扩增的肌原细胞仍然能保持分化能力，一旦遇到合适的培养环境即可融合形成肌细胞。在培养基中添加适宜的信号蛋白如成纤维细胞或肝细胞生长因子（FGF/ HGF）可以将肌原细胞维持在增殖、未分化的状态：如果这些可溶性的因子被移除，则细胞将迅速停止分裂，开始分化和融合。针对肌原细胞分化的调控系统相当复杂，然而和细胞外基质的接触对肌原细胞的分化也很重要。此外，这一分化过程是协同性的：已经开始分化的肌原细胞会分泌某些因子，显著地促进其他肌原细胞的分化。在正常无伤的动物体内，肌原细胞和肌纤维存在于由成纤维细胞形成的结缔组织框架网孔内。这一框架结构用于指导肌肉的发育，控制肌细胞的排布和朝向。

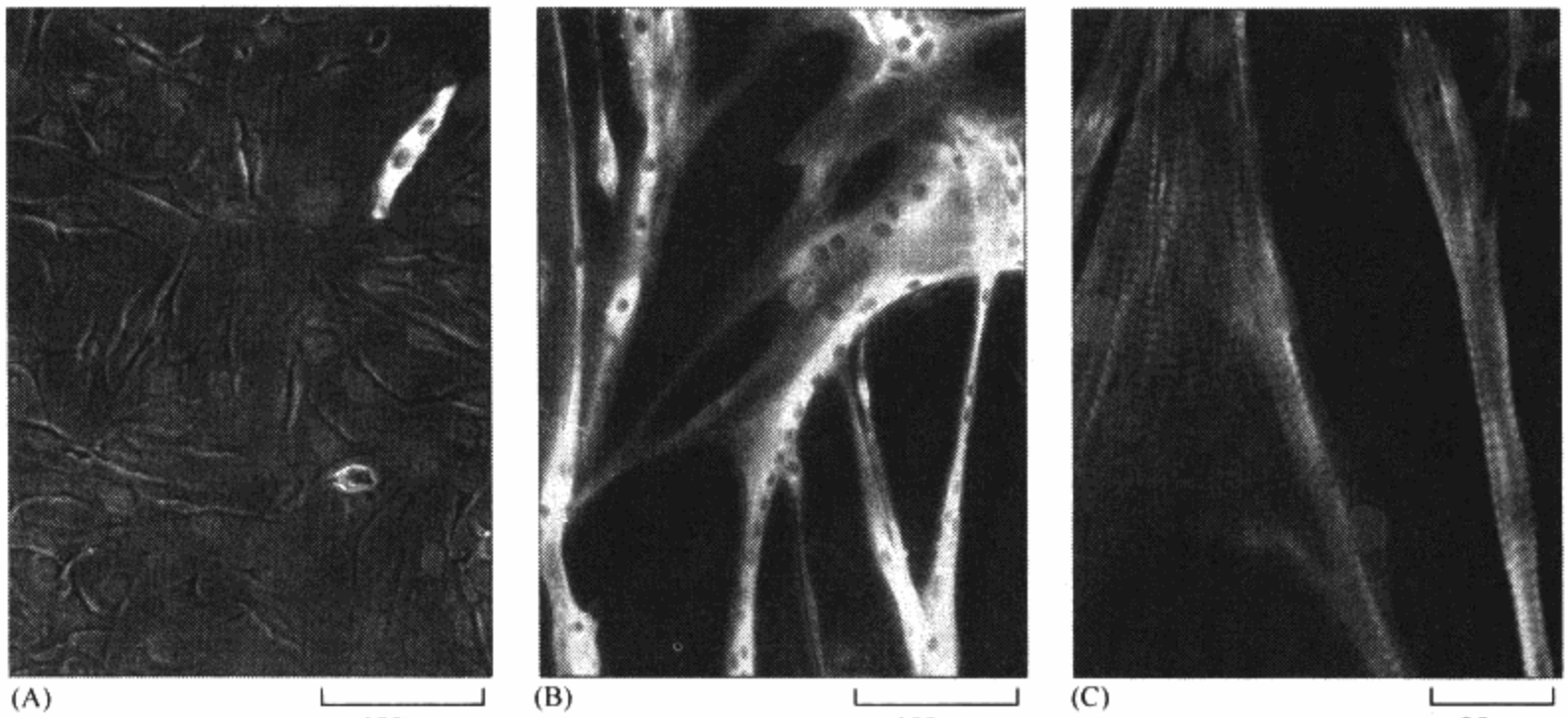


图 22-41　培养过程中肌原细胞的融合

培养物被抗骨骼肌肌球蛋白从而标记已分化的肌细胞的荧光抗体（绿色）和显示细胞核的 DNA 特异性染料（蓝色）染色。（A）刚刚将培养基转变成有利于分化的培养基后，就可见视野中两个肌原细胞产生的肌球蛋白种类发生转变，融合形成一个具有两个核的肌细胞（右上）。（B）一段时间后，几乎所有的细胞都已分化并融合。（C）高放大倍数下显示两个多核肌细胞的纹理特征（细横纹）（经 Jacqueline Gross 和 Terence Partridg 允许）

肌细胞通过改变胞内蛋白质异型体改变自身特征

骨骼肌纤维一旦形成，就将不断生长、成熟并根据功能的需要调整自身特性。一方面，基因组中含有多种不同的基因拷贝，编码多种骨骼肌细胞特异性蛋白；另一方面，转录这些基因的 RNA 可以经由几种方式剪切。因此这些基因可产生大量蛋白质异型体用作收缩装置的元件。肌纤维成熟后就可以产生不同的蛋白质异型体，以适应胎儿、新生儿和成体内对于肌纤维的收缩速度、强度和耐力的不同要求。在同一个成年个体的肌肉组织中，可以同时发现几种不同的骨骼肌纤维，其中每一种都含有不同的蛋白质异型体，具有不同的功能特性（图 22-42）。慢肌纤维（用于持久性收缩）和快肌纤维（用于迅速抽搐）分别由慢运动神经元和快运动神经元支配，支配是由这些神经元传递不同形式的电刺激来调控肌纤维基因的表达和肌纤维的长度实现的。

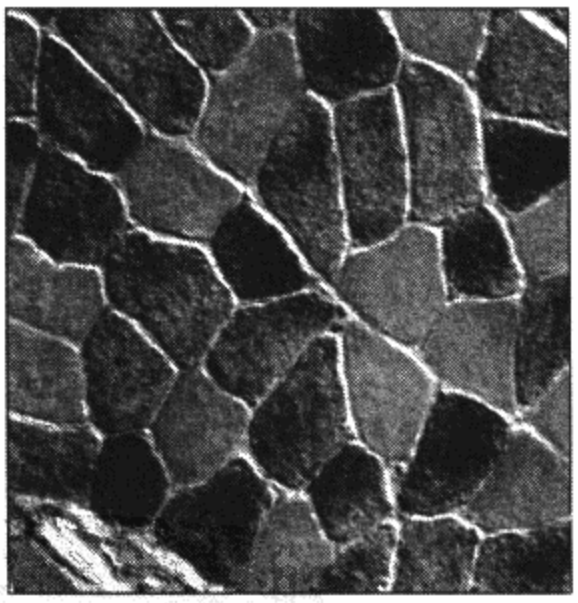


图 22-42　快肌纤维和慢肌纤维

成年鼠同一腿部肌肉两次连续横切片用不同的抗体染色，每种抗体和不同肌球蛋白重链的同种型（isoform）特异性结合。然后将两张切片叠加形成伪彩色图片以显示肌纤维类型。被抗快肌球蛋白（灰色）的抗体染色的纤维专一产生快而短促收缩；被抗慢肌球蛋白（粉色）的抗体染色的纤维专一产生慢而持久的收缩。快速收缩纤维是白色肌纤维，因为它们具有较少的有色氧结合蛋白肌红蛋白。慢肌纤维又被称作红肌纤维，因为它们具有较多的肌红蛋白（经 Simon Hughes 允许）

骨骼肌纤维分泌筒箭毒碱限制自身的生长

肌肉可以通过三种方式生长：肌纤维数目的增加、长度的增加和周长的增加。因为骨骼肌纤维不能分裂，它们大多是由肌原细胞融合产生的，特别是成人个体内多核骨骼肌细胞纤维的数量实际上早在出生之前就已经固定了。骨骼肌纤维一旦形成后一般可以终生使

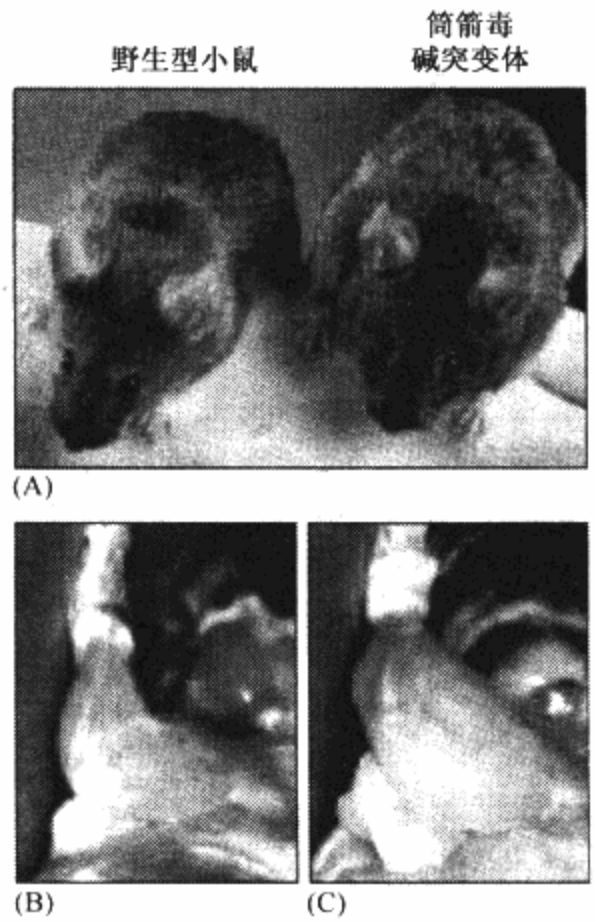


图 22-43　筒箭毒碱对肌肉大小的调节

(A) 正常的鼠和筒箭毒碱缺陷型突变鼠的比较。(B) 正常鼠的腿部和 (C) 筒箭毒碱缺陷鼠腿部，皮肤被移除以暴露突变鼠肌肉组织的明显增大（摘自 S-J. Lee 和 A. C. McPherron, *Curr Opin. Genet. Devel.* 9：604～607. 1999. © Elsevier）

用，只是每个肌细胞的细胞核数量可以增减。因此，肌肉体积在出生后地增长主要依靠细胞体积地增大；长度的生长依赖招募更多的肌原纤维融入已有的多核纤维，从而增加每个肌细胞的细胞核数；而往往发生在举重选手身上的肌纤维周长增加的现象，则同时涉及肌原细胞的招募和受到单个肌纤维细胞核支持的收缩性肌原纤维在大小和数目上的增长。

那么是什么机制控制了肌细胞数目和大小的增长？其中一种答案是叫做筒箭毒碱的胞外信号蛋白。实验证明，丢失了筒箭毒碱基因的功能缺失突变鼠具有多于正常鼠 2～3 倍的肌肉（图 22-43），其肌细胞的数量和大小似乎都有所增加。另外在所谓“双倍肌肉”家畜品种（图 17-51）中也存在着同样的基因突变：由于会挑选肌肉含量高的家畜，饲养者无意识地筛选出了筒箭毒碱缺陷的家畜个体。筒箭毒碱是信号蛋白 TGFβ 超家族的成员，它通常由骨骼肌细胞产生并分泌，其作用是为限制肌肉生长提供负反馈。在成人体内可以检测到小量筒箭毒碱蛋白，而据报道在肌肉萎缩的艾滋病患者体内此蛋白质的水平升高。因此，筒箭毒碱可能是成体肌肉生长和发育期间的负调控因子。此外其他一些器官的生长模式和肌纤维很相似，都是利用自己产生的因子负反馈作用于自身，进行调控。我们将在后面看到这样一个例子。

一些肌原细胞以静息干细胞的形式存在于成年个体内

虽然成人一般不再产生新的骨骼肌纤维，但这种能力实际并未完全丢失。一些能够产生

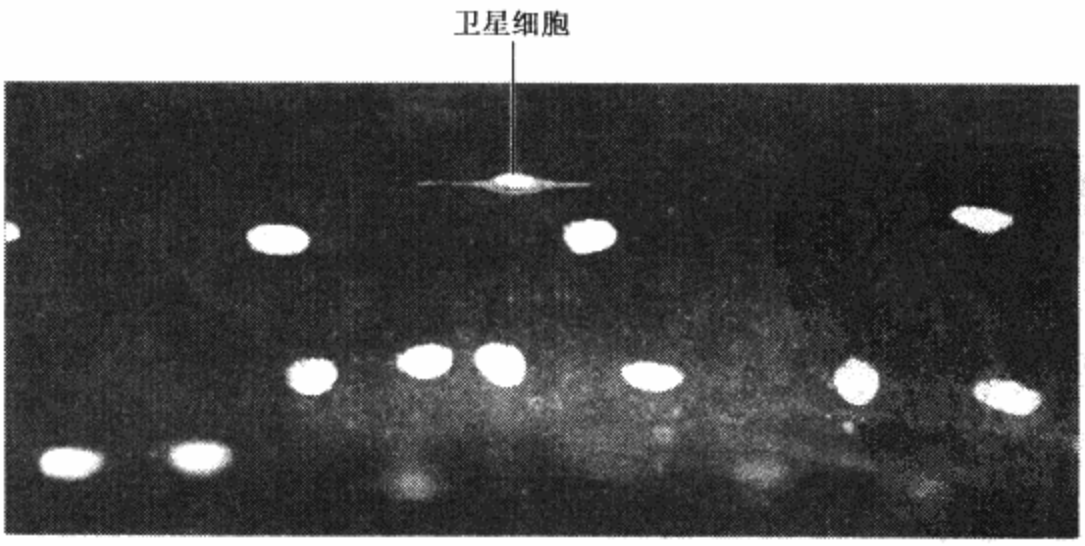


图 22-44　骨骼肌纤维上的卫星细胞

样品用抗肌肉钙黏蛋白，M-钙黏蛋白的抗体（红色）染色。M-钙黏蛋白存在于卫星细胞和肌纤维上，主要集中在两种细胞接触的膜上。肌纤维的多核被染为绿色，卫星细胞的细胞核被染为红色（经 Terence Partridge 允许）

新的肌原细胞的细胞小、扁平且处于静息状态，它们和成熟的肌细胞紧密接触并被包裹于它的基膜鞘中（图 22-44）。如果肌肉受到损伤，这些卫星细胞将被激活增殖，其后代将融入并修复受损的肌肉。因此，卫星细胞是成体骨骼肌细胞的干细胞，它们平时被储存在静息状态，一旦需要则可成为新生终末分化细胞的来源。运动员在专攻肌肉强度训练时经常会拉伤肌纤维，其肌肉的修复就需要依赖这种机制产生新的肌纤维，这些新生肌纤维往往高度分支化。

然而，卫星细胞的肌肉修复过程是受到一定限制的。例如，一种肌肉萎缩症，患者由于细胞骨架蛋白质——抗肌萎缩蛋白的基因缺陷而导致分化的骨骼肌细胞受损。结果虽然卫星细胞可以增殖修复受损的肌纤维，但是修复的速度赶不上受损的速度，受损处的肌细胞最终被结缔组织取代，从而阻碍了肌纤维的进一步再生。另一种类似的肌肉修复能力丧失是由于老年个体肌肉衰老功能减弱所致。

肌肉萎缩症患者的卫星细胞长期处于增殖状态下，细胞的端粒随着每一次细胞分裂周期而逐渐缩短（讨论见第 17 章），因而分裂的能力也逐渐耗尽。其他组织（如血液）的干细胞也受到相同的限制：它们通常分裂得很慢，引起它们快速分裂的突变或是异常环境将会导致干细胞的过早衰竭。

小结

骨骼肌纤维是 4 种主要专职收缩的脊椎动物细胞之一，它们负责所有随意运动。每个骨骼肌纤维都是一个合胞体，由多个肌原细胞融合发育而来。肌原细胞可以大量增殖，但是一旦发生融合，它们将不再分裂。肌原细胞刚刚开始分化就进入了融合过程，在分化时，很多编码肌肉特异性蛋白的基因协调打开。一些肌原细胞以静息的卫星细胞状态存在于成体肌肉内；当肌肉受到损伤时，这些细胞将被激活增殖并且融合修复缺失的肌细胞。肌肉的体积被一种负反馈机制调节在稳态，在该机制中，现有的肌肉分泌筒箭毒碱，阻碍肌肉的进一步生长。

成纤维细胞及其转化：结缔组织细胞家族

一些细胞家族的成员在起源和性质上关系十分密切，很多成年个体的分化细胞都可被归入这种家族。一个重要的例子是**结缔组织细胞**家族，其成员不仅相关并且通常可以相互转化。这一家族包括成纤维细胞、软骨细胞和骨细胞，它们专门分泌胶原类细胞外基质并共同构建起身体的构架。结缔组织家族还包括脂肪细胞和平滑肌细胞。图 22-45 表示了这些类型的细胞及它们之间可能发生的相互转化。结缔组织细胞对几乎各个组织和器官的支持和修复都十分关键，而其分化特征的适应性是它对多种损伤应答的重要特征。

成纤维细胞受到不同化学信号的刺激改变自身的性质

成纤维细胞似乎是结缔组织家族中专门化程度最低的细胞。它们散在于全身的结缔组织中，分泌富含Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原的柔软的细胞外基质（讨论见第 19 章）。当组织受到损伤时，其近旁的成纤维细胞增殖并迁移至伤处，随后产生大量的胶原基质以隔离并修复受损组织。成纤维细胞在伤处旺盛生长的能力以及其独居的生活模式，使得它成为体外最易培养的细胞，因此它是细胞生物学研究中人们更愿意研究的课题（图 22-46）。

如图 22-45 所示，成纤维细胞是结缔组织中最多能的细胞，具有分化为家族其他成员的能力，但是它们的转化是不确定的。一些强有力的证据证明身体不同部位的成纤维细胞本质上是不同的，甚至同一部位的成纤维细胞之间也会存在差异。转化能力较弱的“成熟”成纤

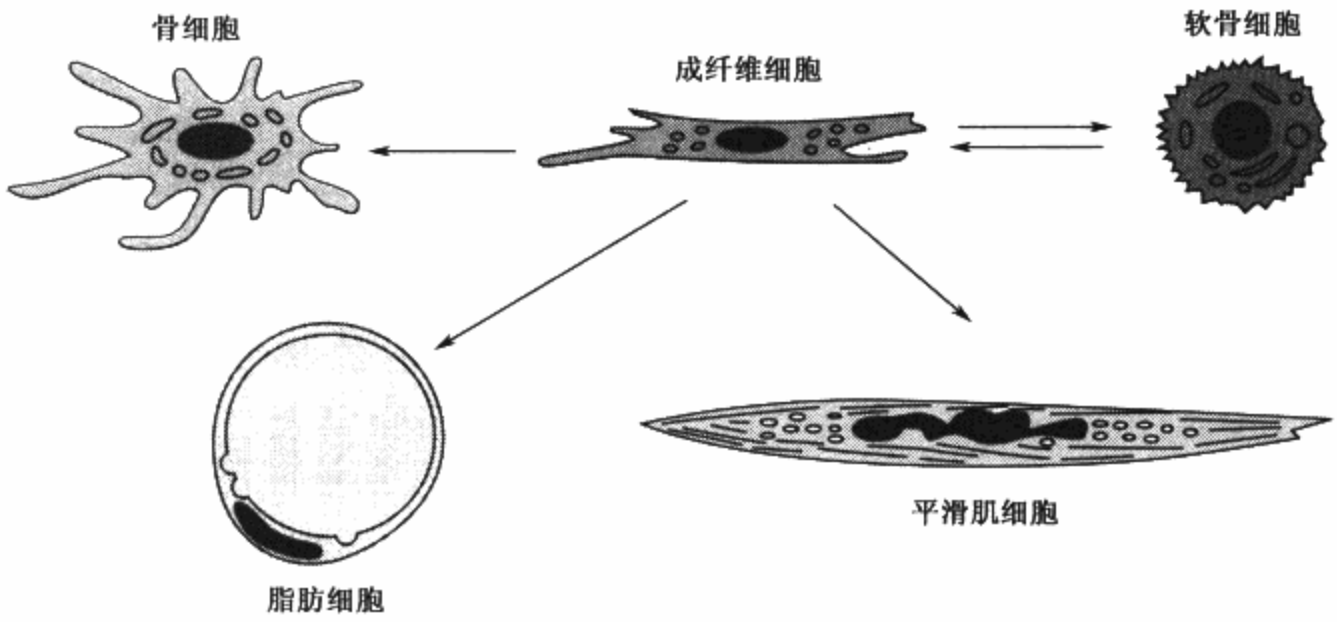


图 22-45　结缔组织细胞家族

箭头显示结缔组织家族内部的互变现象。为简单起见，成纤维细胞显示为一种细胞类型。但实际上成纤维细胞存在多少种类型以及不同类型的分化潜能是否不同仍不确定

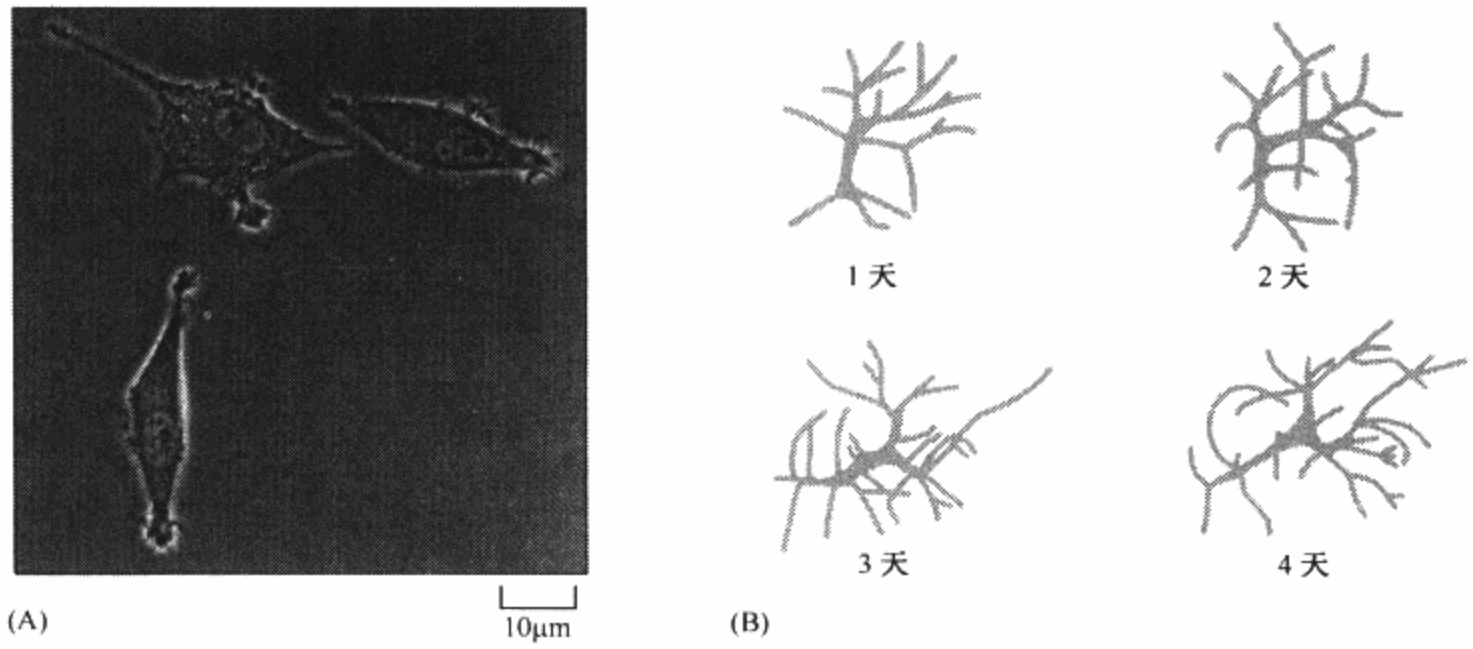


图 22-46　成纤维细胞

（A）培养的成纤维细胞相差显微镜照片。（B）蝌蚪透明尾部活体成纤维状细胞的组图显示显示其在连续几天种形态和位置的改变。注意当成纤维细胞在培养过程中变扁平时，它们可以产生更复杂的产生突起的组织形态变化，见图 19-35［（A）摘自 E. Pokorna et al.，*Cell Motil. Cytoskel.* 28：25～33，1994. © Wiley-Liss；（B）redrawn 摘自 E. Clark. *Am. J. Anat.* 13：351～379，1912］

维细胞可以和能发育为多种成熟细胞类型的“幼年”成纤维细胞（通常被称为间充质细胞）生活在一起。

正如以前所提及，骨髓间质细胞为阐述结缔组织的多能性提供了一个很好的例子。骨髓间质细胞是成纤维细胞的一种，可从骨髓中分离在体外培养扩增。通过这种方法利用单个间质祖细胞可生产很大的细胞克隆。根据向培养基中加入的蛋白质信号分子的不同，克隆集落的细胞可能继续增殖产生更多同种类型的细胞或是分化成脂肪细胞、软骨细胞或骨细胞。由于自我更新能力和多能性，这些细胞又称作间充质干细胞。

皮肤的成纤维细胞也各不相同。当放置在相同的培养条件下时，它们会显示出不同的可塑性。但是皮肤成纤维细胞可被诱导改变自身特性。例如，在伤口愈合的过程中，它们可以

改变肌动蛋白基因表达，使自身在一定程度上具有平滑肌细胞的收缩特性，将伤口的两边拉近；这种细胞叫做成肌纤维细胞。更令人不可思议的是，如果把骨磨成细粉并溶去其中坚硬的矿物成分制成骨基质，然后将骨基质植入皮肤中的真皮层，真皮中的一些细胞（可能是成纤维细胞）将转化为软骨细胞，稍后，另一些细胞则转化为骨细胞，从而增生出一小块骨质肿块。这些实验说明细胞外基质中的成分可以极大地影响结缔组织细胞的分化。

我们将在下文看到相似的细胞转化对骨折的自然修复起着多么重要的作用。事实上，骨基质含有高浓度的几种可影响结缔组织细胞行为的信号蛋白，其中含有包括 BMP 和 TGFβ 在内的 TGFβ 超家族成员。这些因子是成纤维细胞生长、分化和基质合成的有效调节因子，根据靶细胞的类型、靶细胞和其他因子的结合情况以及基质成分的不同而发挥多种不同的作用。当这些因子注入动物活体内时，根据注射点和周围环境的不同，可以诱导软骨、骨骼或纤维性基质的形成。其中，TGFβ 对于伤口的愈合尤其重要，它可以刺激伤处成纤维细胞向成肌纤维细胞的转换，并促进富含胶原的瘢痕组织的形成，增加愈合处强度。

细胞外基质可能通过影响细胞形状及其附着来影响结缔组织细胞的分化

细胞外基质可能通过物理和化学作用影响结缔组织细胞的分化。这个结论已经被体外培养的**软骨细胞**的相关研究支持。在适宜的培养条件下，软骨细胞增殖并且维持自身的分化特性，持续几代大量合成具有高度特异性的软骨基质包围在自身四周。但如果这些细胞以相当低的密度单层培养于平皿中，细胞类型的转化就会发生：软骨细胞失去本来的球形形状，呈扁平状贴在培养皿底部，并停止生产软骨基质。这一切都归因于分子水平上的改变：细胞停止生产软骨特征性的Ⅱ型胶原，开始生产成纤维细胞特征性的Ⅰ型胶原。在这种条件下培养一个月后，几乎所有的软骨细胞都会改变它们胶原基因的表达，转变为成纤维细胞的形态。这种生化改变必然是突然发生的，因为几乎没有观察到同时产生两种胶原的细胞。

一些证据证明生化改变在一定程度上是细胞形态和附着情况的变化诱导的。将已经转换为成纤维细胞性质的软骨细胞从原先的平皿中小心分离，转移至琼脂糖平皿中。琼脂糖呈凝胶状，使细胞悬浮在当中不能和平皿底部接触，迫使它们成为球形状态。在这种情况下，这些细胞会迅速的转变回原有的软骨细胞性质，开始产生Ⅱ型胶原。因此，正如第 19 章所述，整联蛋白作为基质受体使细胞发生灶性接触，产生胞内信号，使细胞的形态和周围支持细胞的基质控制基因的表达。

对于大多数类型的细胞，尤其是结缔组织细胞，锚定和附着的可能性依赖于细胞自身分泌的周围基质。因此，一个细胞可以为自身创造周围环境，这个环境反作用于细胞以支持它的分化状态。而且，细胞分泌的胞外基质除了形成自身周围的环境，也为相邻细胞提供了周围环境，因而使相邻细胞倾向于以同方式同步调分化（图 19-61）。例如，无论是在发育的机体内或是在培养皿中，形成软骨块的软骨细胞群会由于周边成纤维细胞转变为软骨细胞而扩大。

脂肪细胞可以从成纤维细胞发育而来

无论在正常发育的哺乳动物体内还是在各种病理环境下，**脂肪细胞**也都来源于成纤维样细胞。例如，在肌无力患者体内，死亡的肌细胞可能由于局部成纤维细胞的转换而被脂肪结缔组织替代。脂肪细胞的分化（正常的或病理的）始于两个家族基因调节蛋白的表达：*C/EBP*（CCAAT/增强子结合蛋白）家族和 *PPAR*（过氧化物酶体增生物激活受体）家族，尤其是 PPARγ。类似于骨骼肌发育过程中的 MyoD 和 MEF2 家族，C/EBP 和 PPARγ 蛋白通

过多种相互调节和自动调节控制回路促进并维持彼此的表达。它们还共同作用控制脂肪细胞其他特征性基因的表达。

脂肪酸和葡萄糖输入酶以及脂肪合成酶的产生导致胞内脂肪微滴的累积，其主要成分是甘油三酯（图 2-77）。这些微滴融合扩增直至细胞极大的膨胀（直径达到 120μm），仅有一薄层细胞质边框环绕在脂类物质周围（图 22-47 和图 22-48）。脂肪酶也产自脂肪细胞，它可以将甘油三酯分解为脂肪酸，后者可被分泌出胞外并被其余细胞利用，因而具有逆转胞内脂类积累过程的能力。脂肪细胞可以通过脂类积累释放等多种方法改变自身的体积。

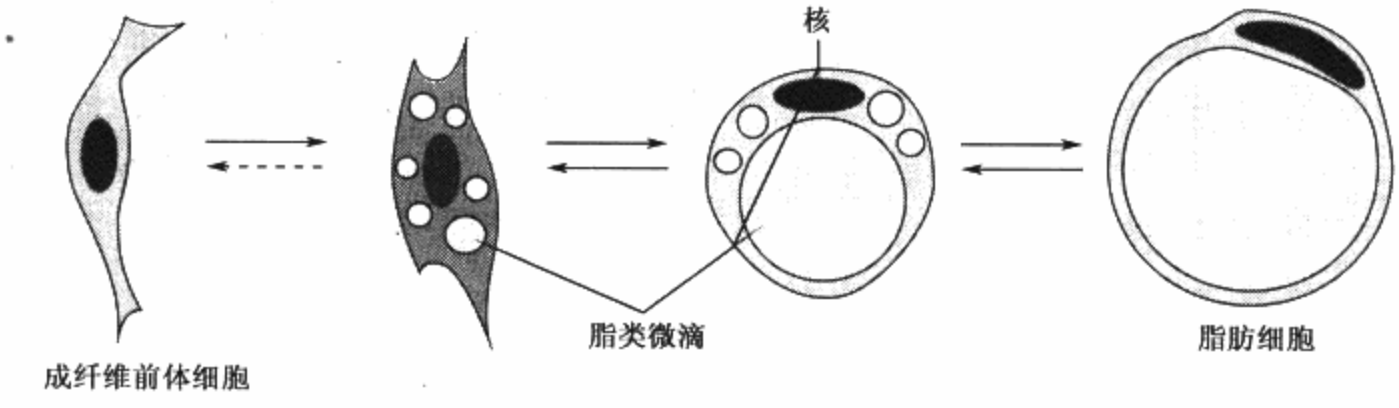


图 22-47　脂肪细胞的形成

成纤维状前体细胞通过聚集凝并脂滴转变为成熟的脂肪细胞。正如箭头所示，这一过程至少是部分可逆的。细胞在最初和中间阶段都是可分裂的，但成熟的脂肪细胞不可分裂

脂肪细胞分泌的瘦素蛋白通过负反馈抑制进食活动

对于绝大多数生活在自然环境中的动物，食物的供给是随时变化不可预见的。脂肪细胞具有一个极其重要的功能：在供给充足时储备营养物质；在供给匮乏时释放营养物质。因此在生物的整个生活史中，根据营养物质供给量调节脂肪组织量对脂肪组织的功能是十分必要的。对于我们的祖先，这是幸运的；而在多半地区营养充足的现代世界，这成为诅咒。例如，在美国，如果将肥胖定义为体重指数（体重/身高^2）大于 30kg/m^2，即高于理想体重 30%以上，则全国大约有超过 30%的人口正在遭受肥胖的折磨。

很难确定脂肪组织量在多大程度上依赖于脂肪细胞的数量还是依赖于脂肪细胞的体积。正常非肥胖成体中，细胞体积的变化可能是影响脂肪组织量的主要因素；而在严重的肥胖个体中，除了细胞体积增加，至少细胞数量也在增长。负责征召更多新脂肪细胞的因子尚不清楚，但是普遍认为生长激素和 IGF-1（胰岛素样生长激素-1）起到了一定作用。然而对于脂肪细胞体积的调节机制已经十分清楚：它们体积的增减由体内循环的营养物质水平和反映营养物质水平的激素（如胰岛素）直接调控。因此超出能量消耗所需的食物摄入将直接导致脂肪组织的累积。

但是食物的摄入和能量的消耗本身是如何被调控以达到平衡呢？一个成人一年大约摄入 100 万卡路里，大

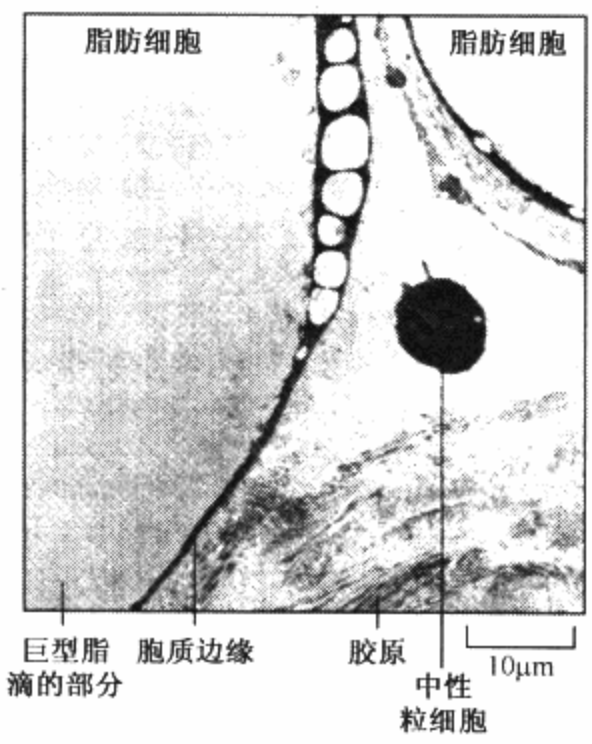


图 22-48　脂肪细胞

这张放大倍数电镜照片显示两个脂肪细胞的局部。一个嗜中性粒细胞正好处于毗连的基地组织中，提供了比例尺；每个脂肪细胞的直径都是嗜中性粒细胞的 10 倍以上，并能够且几乎完全被一个大的脂滴充满。在细胞膜边缘仍具有小的脂滴（白色卵圆形），它们会和中央的大脂滴融合。在这张图片中两个脂肪细胞的细胞核都不可见（经 Don Fawcett 允许，摘自 D. W. Fawcett, A Textbook of Histology, 12th edn. New York: Chapman and Hall. 1994）

约相当于 200kg 纯脂肪。显然，如果我们在一生中没有变得肥胖无比或者瘦骨嶙峋，就一定存在某些机制根据身体内的脂肪储量长期调控着我们的进食活动和能量消耗。其中关键的信号分子就是一种叫做**瘦素**的蛋白质激素，它随着血流在全身循环。缺乏瘦素或者正确瘦素受体的突变小鼠极端肥胖（图 22-49）。虽然数量极少，相同的基因突变有时仍然会发生在人类中，导致的结果也是相似的：患者总是处于饥饿状态，因而过量饮食导致极度肥胖。

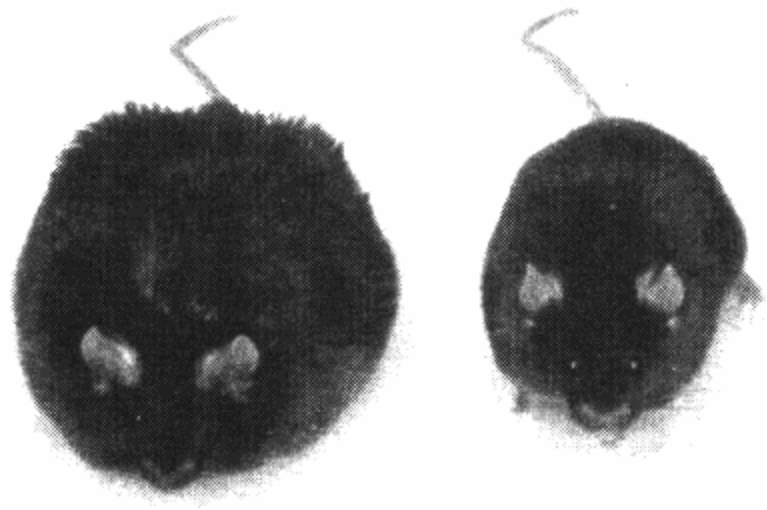


图 22-49　瘦素缺乏的影响

正常鼠和编码瘦素的 obese 基因突变鼠的比较，瘦素缺陷突变鼠不能控制自身饮食因而特别肥胖（其体重 3 倍于正常鼠）（经 Jeffrey M. Friedman 允许）

瘦素通常由脂肪细胞产生；细胞越大，产生的瘦素越多。瘦素作用于多种组织，尤其是下丘脑中控制进食行为的区域的细胞。其对脑部的作用的结果是缓解饥饿感并抑制进食，最终导致脂肪组织总量减少。因此，和肌细胞释放的筒箭毒碱一样，瘦素也建立了一种负反馈机制来调节分泌它的组织的生长。

在大多数肥胖者体内，血流中的瘦素水平始终很高，而瘦素受体也存在并且功能正常，此种情况下瘦素对食物摄入的作用被其他因素压制，而这些因素目前仍不明了。

骨骼由其细胞不断改造重建

骨骼是一种极其致密，形态特化的结缔组织。虽然它和脂肪组织有共同的起源，但是两者截然不同。骨基质好似强化的混凝土结构，主要由抗拉的强韧纤维（Ⅰ型胶原纤维）和抗压的固体颗粒（形成羟基磷灰石晶体的磷酸钙）混合而成。胶原所占的体积和磷酸钙所占的体积大体相当。胶原纤维在成体骨骼中以夹板的形式规则地层层排布，每一层中的纤维彼此平行；而相邻层中的纤维彼此垂直。

虽然坚固，但是骨骼绝非经久不变的组织。活细胞存在于贯通坚硬细胞外基质的通道和孔穴中，大约占密质骨总重的 15%。这些细胞负责骨骼永不停息的重建过程：一类细胞（破骨细胞，和巨噬细胞有亲缘关系）破坏旧的骨基质，另一类细胞（成骨细胞，和成纤维细胞有亲缘关系）沉积新的骨基质。这种机制使骨骼内部维持在持续翻新替换的状态。

不同于通过内部扩充生长的软组织，骨骼只能进行外加生长，即将新增的基质和细胞放置在已经存在的骨骼表面。在发育过程中，骨骼必须和其余组织协调生长，使得在身体体积增大的同时比例不被破坏。对于大部分骨骼，尤其是四肢和躯干的长骨，这种协调的生长是由一个复杂的机制完成的。首先，软骨形成这些骨骼的“微缩模型”，进而每一微缩模型生长，当新的软骨形成时，旧的软骨将被骨骼替代。发育过程中，软骨的生长和腐蚀以及骨骼

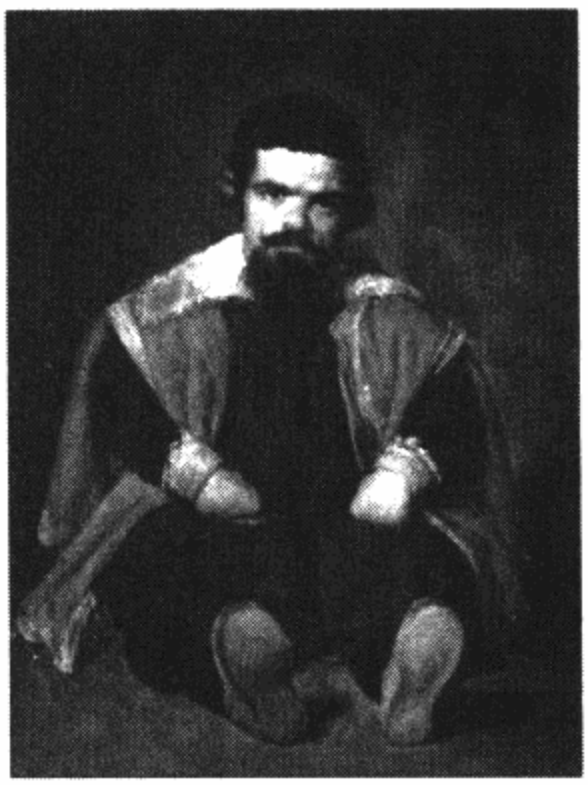


图 22-50　软骨发育不全

这种侏儒症的发病率为 10 000～100 000 新生儿中一例；大于 99%的病例是由基因组同一位点的突变引起的，即负责编码 FGF-受体-3 的第 380 位氨基酸（跨膜结构域中的一个甘氨酸）的碱基。突变是显性的，并且几乎所有病例都是由独立发生的新发突变引起，这暗示着基因组此位点具有异常高的突变率。FGF 信号通路的缺陷干扰长骨生长使软骨的形成，从而导致侏儒症的发生（摘自 Velasquez's painting of Sebastian de Morra. © Museo del Prado, Madrid）

的沉积被如此精妙地调节，以至于即使成骨最终有半米长，它的形状也几乎和最初不足几毫米长的软骨模型完全一样。

编码 FGF 受体（FGFR3）的基因如果发生显性突变，长骨发育过程中将会出现软骨的生长缺陷，这会导致最常见的侏儒症，又叫软骨发育不全（图 22-50）。相反地，携带中止基因调节蛋白（CBFA1）生产的基因突变的个体将缺乏成骨细胞，因为 CBFA1 是成骨细胞分化所必需的蛋白质。此基因的纯和缺陷型小鼠天生只能产生软骨骨骼，因而在出生后迅速死亡。

成骨细胞分泌骨基质，而破骨细胞则侵蚀之

软骨是一种简单的组织，由单一的细胞类型（软骨细胞）埋藏于均一的基质中形成。软骨基质可发生形变，组织的生长依赖于软骨细胞分裂并分泌更多软骨基质所造成的扩充（图 22-51）。相比较而言骨骼更为复杂。骨骼基质由现存基质表面上的**成骨细胞**分泌后，沉积覆盖在原先的骨骼基质上。结果使一些成骨细胞仍然存在于自由表面上，而另一些则逐渐被自身的分泌物掩盖。这些新形成的物质（主要由 I 型胶原组成）叫做**前骨质**。它可以通过磷酸钙晶体的沉积迅速地转变成坚硬的骨基质。一旦陷入坚硬骨基质的包围，原先的成骨细胞（现在为骨细胞）虽然还能分泌小量基质环绕在自身周围，但已不能再分裂。和软骨细胞一样，骨细胞占据基质内的一些小空腔，或称陷窝；但和软骨细胞不同的是，骨细胞不和它的同伴分隔。每一个骨陷窝都辐射出细小的通道，或称微管，微管中含有陷窝中骨细胞的突起，使得相邻的骨细胞可以形成间隙连接（图 22-52）。虽然骨细胞网络本身并不分泌或侵蚀骨基质，但它们很可能调节其他细胞来完成这一过程。

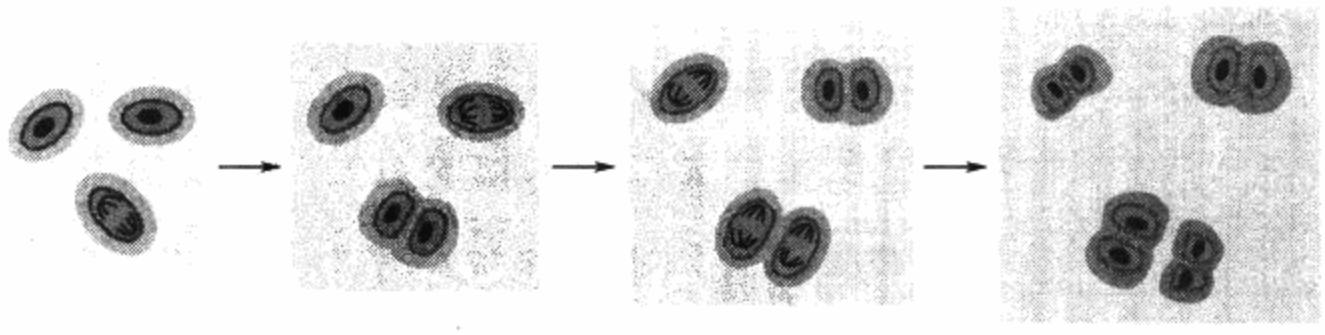


图 22-51　软骨的生长

当软骨细胞分裂并产生更多基质时软骨组织延伸生长。包围每个细胞的新合成基质用深绿色阴影表示。软骨也可以通过从周边组织中征召成纤维细胞再将它们转变成软骨细胞进行生长

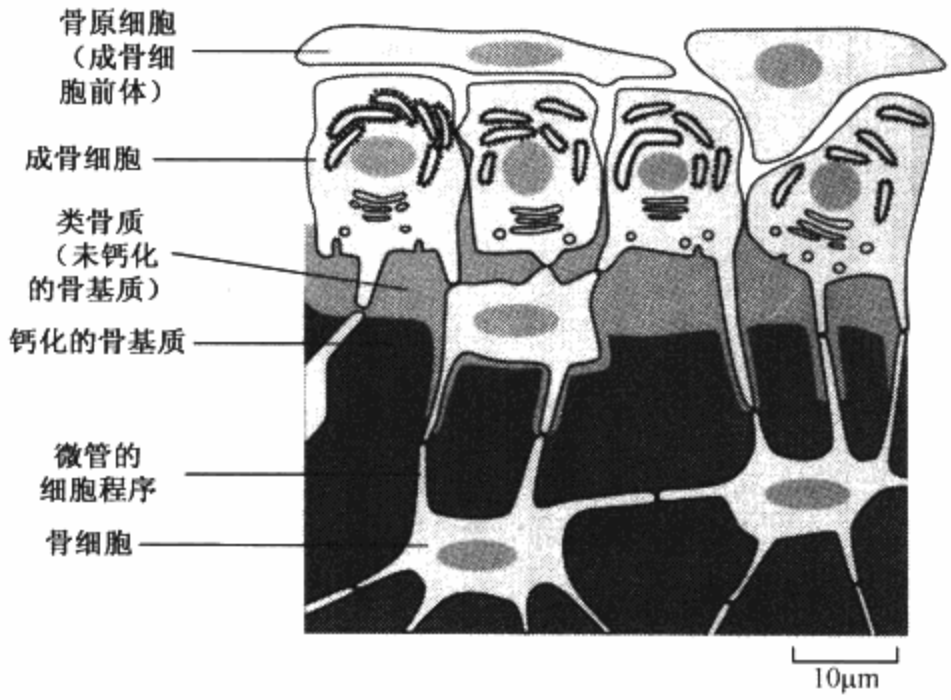


图 22-52　成骨细胞产生的骨基质沉积作用

成骨细胞排布在骨表面，分泌有机骨基质（类骨质）。当它们被埋入此基质中时，就被转变为骨细胞。基质在沉积后迅速钙化。成骨细胞被认为来源于成骨性的干细胞，后者和成纤维细胞具有很近的亲缘关系

骨基质一面由成骨细胞沉积，一面被**破骨细胞**侵蚀（图 22-53）。这些多核的破骨细胞和巨噬细胞一样，都从骨髓中的造血干细胞分化而来。它们的前体细胞以单核细胞的形式被释放到血液中，在骨吸收的位置被收集并融合形成多核细胞黏附在骨基质的表面，进而腐蚀骨基质。破骨细胞可以深深地隧穿致密的骨骼，形成空腔并被其他细胞入侵。每条隧道中各有一条毛细血管生长，隧道的壁也被一层成骨细胞覆盖（图 22-54）。为了产生层叠夹板状的致

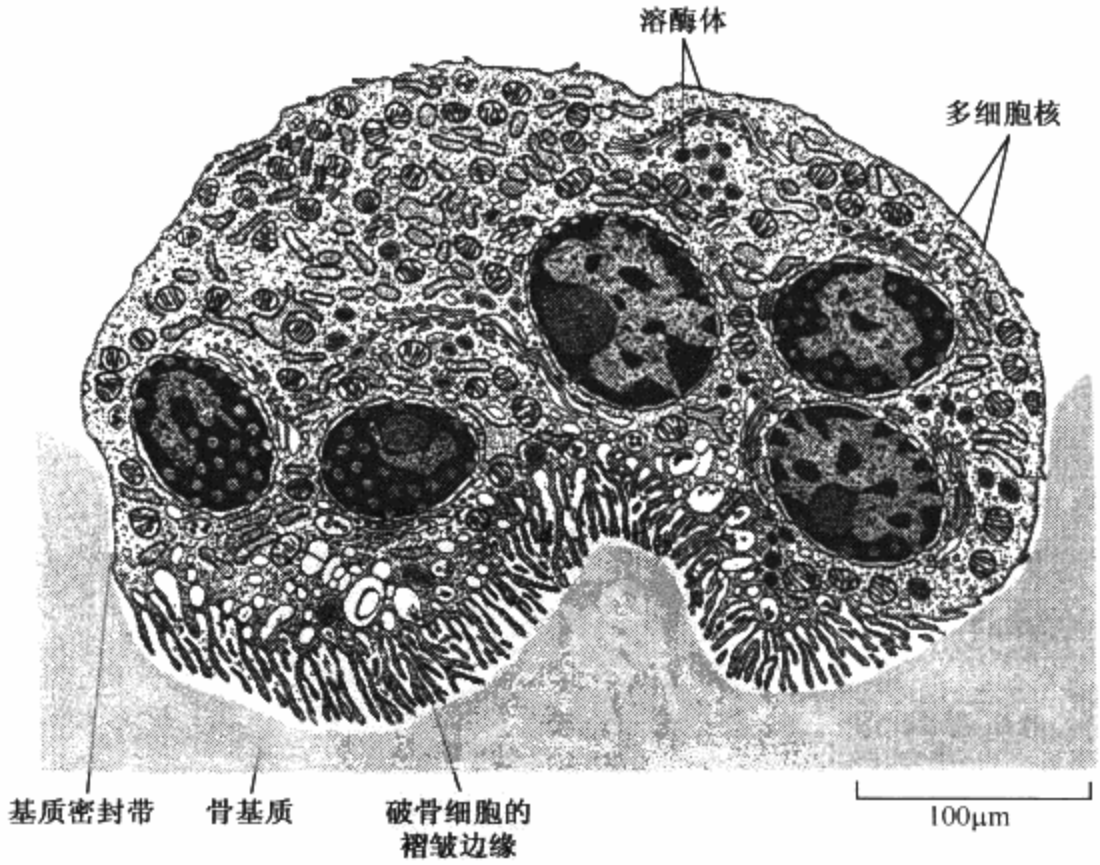


图 22-53　破骨细胞横切

这种巨大的多核细胞侵蚀骨基质。“皱褶缘”是分泌酸（溶解骨骼矿物质）和水解酶（消化基质中的有机成分）的位置。破骨细胞是形态各异的运动细胞，常常伸出触角从不同的位点消融骨骼。它们起源于单核细胞，可以被看作特化的巨噬细胞（摘自 R. V. Krstić. Ultrastructure of the Mammalian Cell：An Atlas. Berlin：Springer-Verlag，1979）

密骨结构，这些成骨细胞形成的新基质呈同心环板状，逐渐填充空腔，仅留下一条狭窄的孔缝容纳这个新的血管。很多成骨细胞逐渐陷于骨基质的包围中，形成排列成同心环状的骨细胞。就在一些隧道被骨基质填充的同时，另一些隧道正在由破骨细胞产生并洞穿旧的同心系统。不断重建的结果是致密骨基质呈现出的美丽的多层形式（图 22-55）。

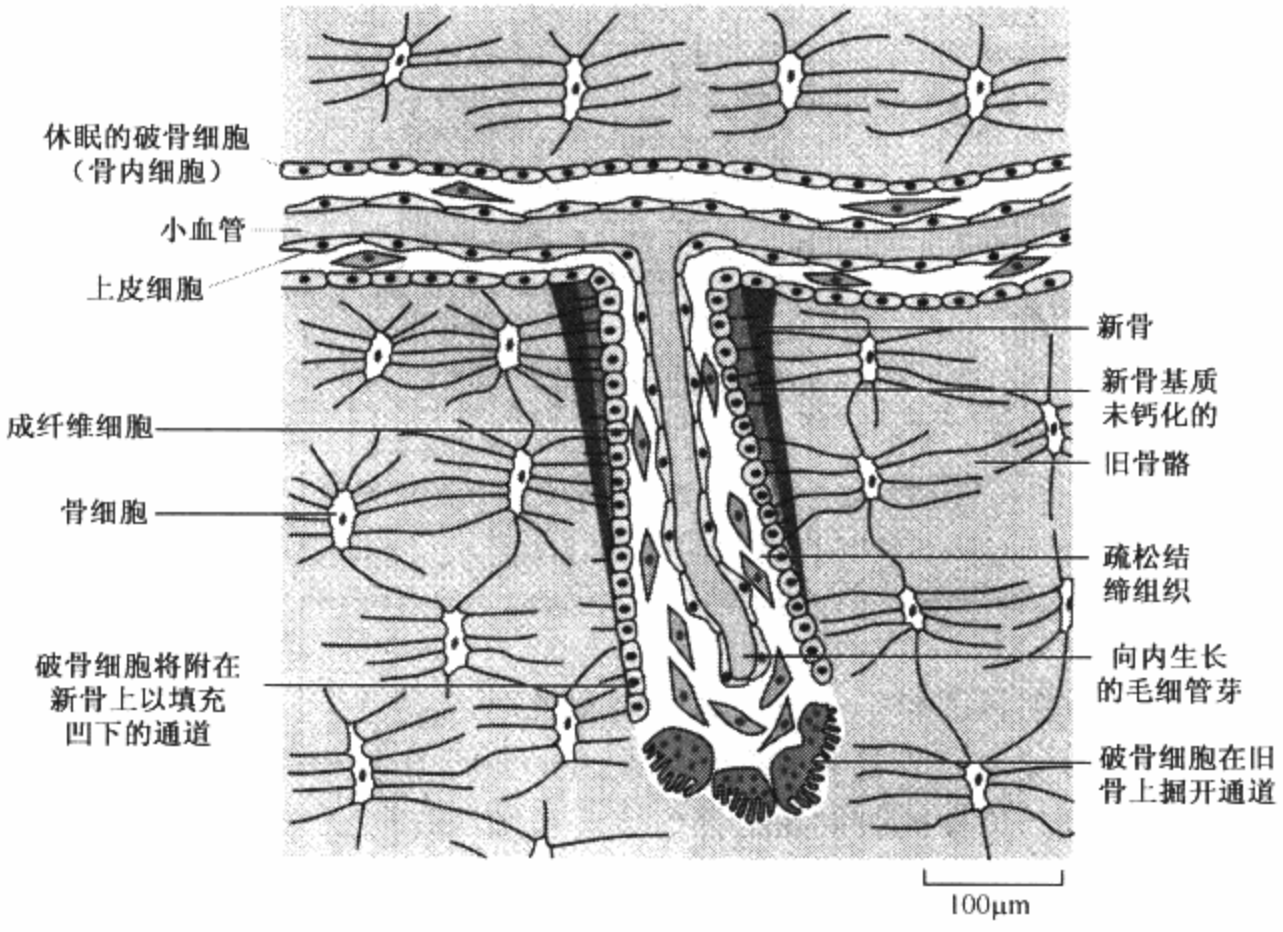


图 22-54　密质骨的重塑

破骨细胞会集成一小簇，共同作用在旧骨上挖出一条隧洞，其推进速度大约是一天 50μm。成骨细胞跟随其进入隧洞，排布在隧洞壁上开始形成新的骨骼，以每天 1～2μm 的速度沉积成骨基质。同时，毛细血管出芽向下伸展至隧洞中心。隧洞最终被称同心圆的新骨层充满。仅在中心留下一条狭窄的通道。每条这样的通道除了为破骨细胞和成骨细胞的进入提供通路外，还具有一道多条血管。这些血管负责输送骨细胞存货所必需的养料。正常情况下，健康的成年哺乳动物体内每年有 5%～10%的骨骼要经过这种方式更新（摘自 Z. F. G. Jaworski，B. Duck 和 G. Sekaly. *J. Anat.* 133：397～405，1981）

通过重建，骨骼被赋予了调节自身结构的能力，以对抗长期施加其上的负荷造成的改变。这种适应性暗示骨基质的沉积和侵蚀在某种程度上受到局部机械力的调控，但是具体的机制尚不清楚。骨细胞分泌的信号蛋白逐渐被基质包围。当基质被分解或受到适宜的应力时，它们很可能被释放出来。这些信号蛋白，尤其是 TGFβ 中的 BMP 超家族成员，可能有助于指导重建过程。

重建具有一定风险：其调控机制的缺陷可导致骨质疏松症（过量的骨基质侵蚀导致骨质脆弱或骨硬化症）骨骼过分的致密。

发育过程中，破骨细胞侵蚀软骨为骨骼的发生创造空间

发育中骨骼代替软骨的过程也被认为依赖于破骨细胞的活动。随着软骨的成熟，其特定区域的细胞利用周围的基质逐渐扩大，而软骨基质自身则像骨骼那样通过磷酸钙晶体的沉积逐渐矿物化。肿胀的软骨细胞死亡，留下大的空腔。破骨细胞和血管侵入空腔侵入空腔并侵蚀残留的软骨基质，而成骨细胞紧随其后开始骨基质的沉积。成体长骨内仅存的软骨残余物覆盖于两骨接合的关节处的骨表面，形成一个平滑的薄层（图 22-56）。

一些细胞可以产生新的软骨，存留在包围着骨骼的结缔组织中。如果骨骼受损，临近折

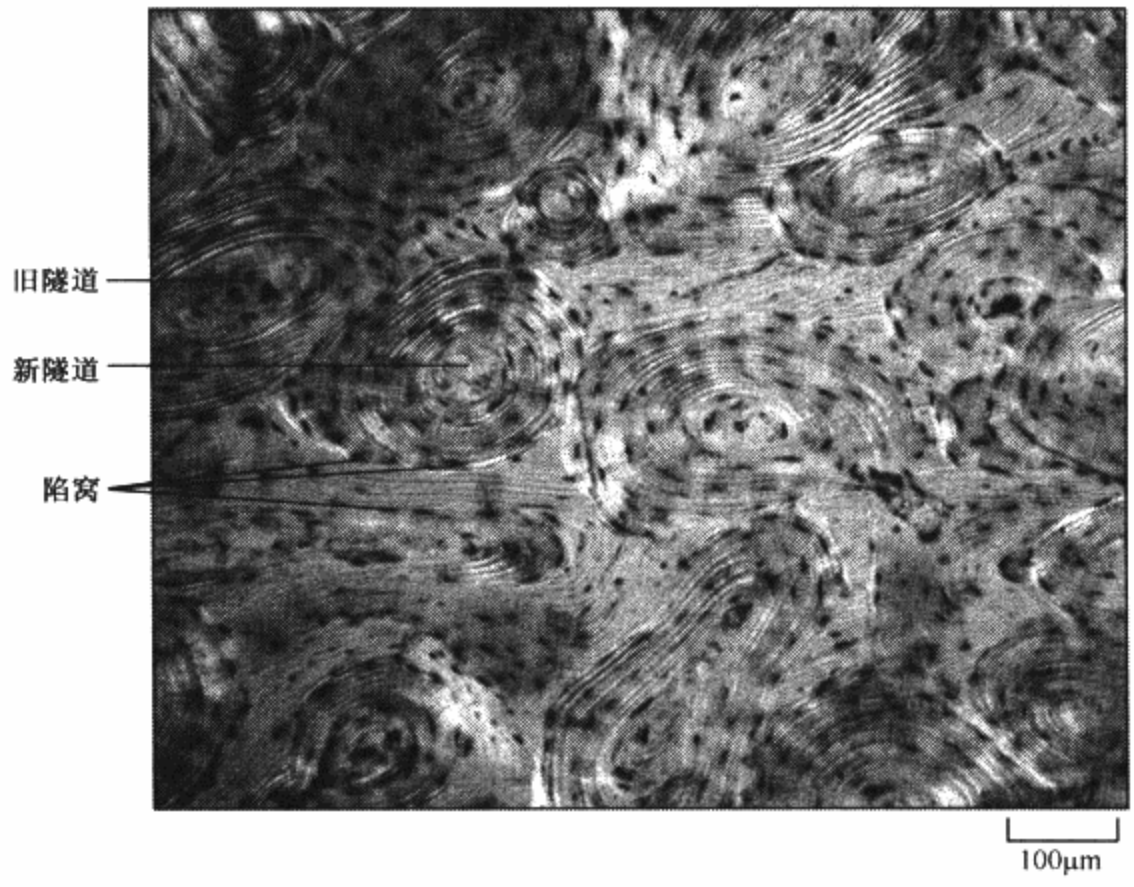


图 22-55　长骨外部密质部分的横切

照片显示了破骨细胞形成的隧道轮廓，这些隧道在后续的骨重塑流程中被成骨细胞填充。切片通过磨削制备。坚硬的基质得到了保留，而细胞却被除去，但是被骨细胞占据的骨陷窝和小管却清晰可见。明暗交替的同心环对应于相邻骨基质层中胶原纤维的交替反向排布（这一模式通过在偏振方向非垂直交叉的两块偏振滤光片观察样品被显示出来）。这些骨基质层由排布在通道壁上的成骨细胞沉积。注意旧的同心圆骨层系统如何被部分切割并被新系统代替

断处的这种细胞将重演最初胚胎发育的过程，修复损伤处。这一过程是：软骨先将缺口搭桥，然后再被骨骼替换。

骨骼组织展示了生物体如此引人注目的自修复能力，它是生命结构特有的性质，当今世界的任何人造物体都不能与之相比。

小结

结缔组织家族细胞包括成纤维细胞、软骨细胞、骨细胞、脂肪细胞和平滑肌细胞。成纤维细胞中的一些种类似乎具有转变成为同家族其他成员的能力。这种结缔组织细胞类型的转变受到周围细胞外基质的成分、细胞形状、激素和生长因子等多种因素的调节。这一家族大多数成员的主要功能是分泌细胞外基质，而脂肪细胞则是脂肪储存的场所。脂肪组织的总量部分受到负反馈的调节：脂肪细胞分泌一种激素——瘦素，作用于脑部以降低食欲，导致脂肪组织的减少。

软骨和骨骼都是由埋入固体基质的细胞组成。软骨基质可以发生形变因而软骨组织可以通过膨胀扩充生长，而骨骼十分坚硬因而只能通过外加的形式生长。骨骼持续不断的重建可以使其适应它所承受的负荷；重建过程依赖于侵蚀基质的破骨细胞以及分泌基质的成骨细胞的协同作用。一些成骨细胞逐渐被基质包围后成为骨细胞，在调节骨基质更新过程中起到调节作用。大多数长骨从软骨的“微缩模型”发育而来，在模型生长的过程中，它们成为成骨细胞和破骨细胞共同作用沉积骨基质的模板。相似地，在修复成体内骨折的过程中，缺口先由软骨接好，然后被骨骼替代。

图 22-56　长骨的生长

长骨，如股骨或肱骨，都是从一个软骨微缩模型生长出来的。未钙化的软骨显示为浅绿色，钙化的软骨显示为深绿色，骨骼显示为黑色，血管显示为红色。软骨并不直接转变为骨骼而是通过破骨细胞和成骨细胞的活动逐渐被骨骼替代。破骨细胞、成骨细胞联合血管侵入软骨，破骨细胞侵蚀软骨和骨基质，而成骨细胞分泌骨基质。骨化作用在胚胎中就已开始，直至青春期还尚未完成。生成的骨骼由密质骨包围一个很大的中央空腔组成，形成一个具有厚壁的中空圆柱，其中央空腔被骨髓填充。注意并不是所有的骨骼都以这种方式形成。例如，颅骨的膜骨就是直接形成的骨片，而不是在一个软骨前体模型的基础上形成的（改编自 D. W. Fawcett，A Textbook of Histology，12th edn. New York：Chapman and Hall，1994）

干细胞工程

当细胞从机体中转移出来在体外培养，它们一般会维持自身原有的性质：角质化细胞仍然是角质化细胞，软骨细胞仍然是软骨细胞，肝细胞仍然是肝细胞等。正如前文讨论的那样，即使在完整无伤组织中可发生有限的转化，每种专职细胞都能记忆自己的发育史并且沿确定的专门分化途径发育。体外培养的干细胞和在体内一样仍可以继续分裂，或分化为一种或几种细胞，但可产生的细胞类型受到一定限制。每一种干细胞负责更新一种特定的组织。对于某些组织，如脑，由于没有干细胞存在，很长一段时间以来一直被认为在成年个体内无法再更新。因此，几乎不可能通过产生新的神经细胞来替代哺乳动物脑内丢失的神经细胞，同样，已经不存在正常祖细胞的其他细胞也不可能再生。

但是近期的发为干细胞的功能及其利用提出了更乐观的观点，推翻了以前悲观的论调。导致这种观念转变的研究显示：干细胞的多能性中存在一些例外的形式，而这些例外却几乎从未被关于组织细胞正常生活史的知识怀疑过。在本章的最后这一节，我们将检验这些例外现象，并讨论它们为改善自然界的自身修复机制所创出的新路。

胚胎干细胞可用于产生身体的任何部分

正如第 21 章所述，我们可以通过细胞培养从鼠早期胚胎中得到一种特殊类型的干细胞——**胚胎干细胞**（或称 **ES 细胞**）。其在体外培养时可无限增殖却保持着无限发育潜能。如

果把这些细胞重新放回早期胚胎环境，它们可以产生体内所有组织和细胞类型，包括生殖细胞。胚胎干细胞可以完美地整合入它们进驻的任何部位，以此处正常细胞的性质和行为方式生活。可以想见当细胞沿着一条途径从受精卵发育至终末分化时，它会面临一系列的选择。而当胚胎干细胞被长时间培养后，它和它的后代仍能像未经培养的胚胎细胞一样识别分化发育道路上每一岔路口的标记，到达正确的“目的地”。

目前已经可以从人类早期胚胎和胎儿的卵巢、睾丸中得到和鼠胚胎干细胞性质相似的人类细胞，从而创造一个潜在的用之不竭的细胞供给源，用于成体受损组织的更新和修复。不管是否有人出于伦理道德的原因反对人类胚胎的利用，它所创造的解决问题的新途径终究是值得考虑的。我们暂且把利用重演胚胎发育的方法使干细胞产生所有组织的梦想搁置一旁，鼠试验已经说明在不远的将来，胚胎干细胞可用于更新肌肉萎缩症患者退化的骨骼肌纤维，帕金森患者死亡的神经细胞、Ⅰ型糖尿病患者缺乏的胰岛素分泌细胞，心脏病患者死亡的心肌细胞等。

鼠的胚胎干细胞在体外培养时可诱导分化多种细胞（图 22-57）。例如，当加入精心选择搭配的某些信号蛋白后，它们可分化为中枢神经组织中两种主要的胶质细胞类型：星形胶质细胞和少突神经胶质细胞。如果将这种培养条件下的胚胎干细胞注入鼠脑内，它们即可产生这些类型的细胞。如果宿主鼠缺乏形成髓鞘（髓磷脂形成）的少突神经胶质细胞，则转移的细胞可以纠正这种错误，在不应裸露的轴突上形成髓鞘。

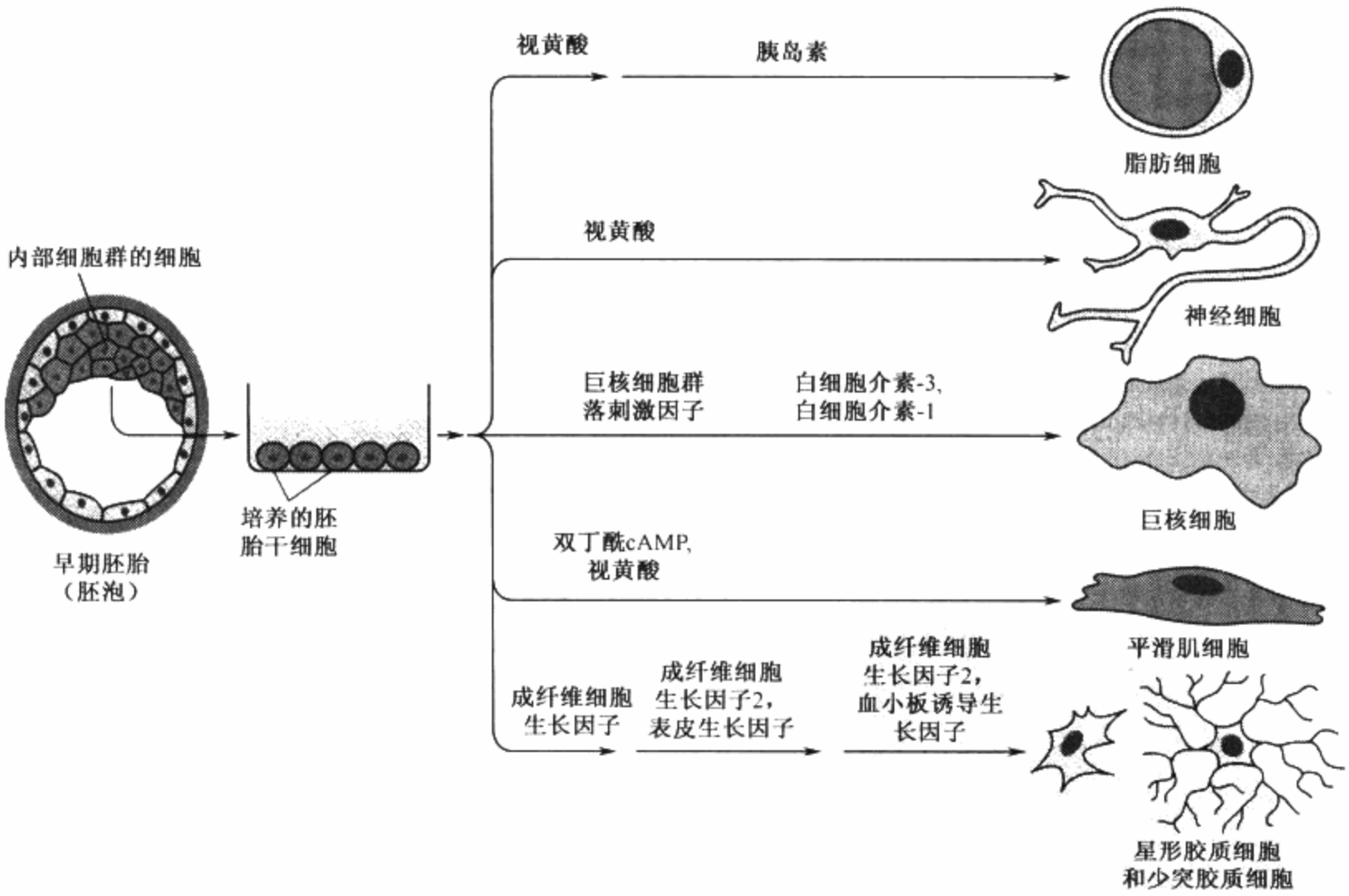


图 22-57　培养鼠胚胎干细胞以产生分化细胞

来源于鼠早期胚胎的胚胎干细胞可以体外培养成单层，或者培养形成聚集状态的胚状体，后者细胞开始特化。胚状体中的细胞在加入不同因子的培养基中培养，可以向不同的方向分化（改编自 E. Fuchs 和 J. A. Segre，*Cell* 100：143～155，2000）

表皮干细胞可在体外扩增培养用于组织修复

从成功的鼠试验到针对人类疾病的常规疗法之间还有很长的路要走。其中一个主要的困难就是免疫排斥。如果将一种基因型个体的胚胎干细胞移植入另一个个体内，被移植的细胞很可能会被免疫系统当作外源物排斥。解决这种问题的方法已经被改进用于肾脏心脏等器官的移植。然而，如果可以从患者自身体内得到正确的干细胞种类，免疫问题甚至一些道德伦理问题就都可以避免。

一个简单的例子是当大面积烧伤后利用表皮干细胞修复皮肤。通过培养烧伤患者皮肤未受损区域的细胞，可以快速得到大量表皮干细胞。这些干细胞可用于重构受损的机体表面。而对于三度烧伤患者，最首要的是要进行真皮的紧急更新。因此手术中往往利用尸体真皮或人造真皮替代品。这仍是一个实验热点领域。一种技术是将人造胶原基质混合葡萄糖胺聚糖制成薄板，用极薄的硅橡胶膜覆盖在薄板外表面以防止水的流失。在受损组织被清除后，这种皮肤替代品（称为 integra）被放置在烧伤机体表面。患者体内存活的深层组织中的成纤维细胞和血管将迁移至人造基质内部，并逐渐用新生的结缔组织替代人造真皮。次期间同时体外培养表皮细胞直至它们足够在所需部位形成一薄层。初次手术后至少两周，硅橡胶膜将被小心移除，取而代之的是培养的表皮，从而重建完整的皮肤。

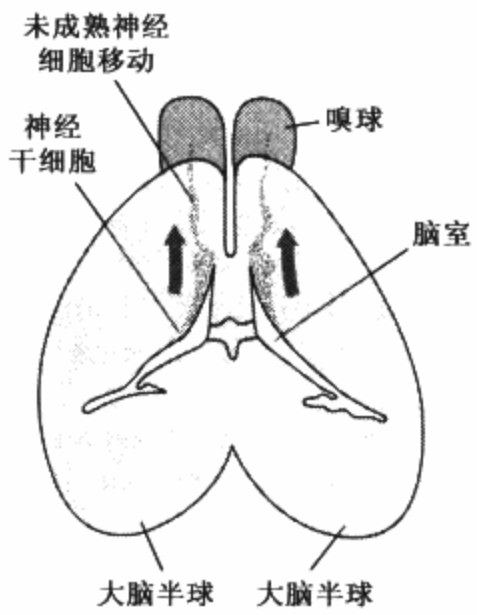


图 22-58　成年鼠脑内神经元的持续产生

从脑部内部剖视（cut-away）切片的上方观察，显示出紧傍前脑脑室的区域。神经干细胞就在此处。这些细胞不断产生子细胞，迁移到嗅球，在嗅球处分化为神经元。嗅球内神经元持续更新在某种程度上可能和从嗅上皮中伸向它们的嗅觉感受器神经元的更新有关，后者在本章前面已经讨论。在成年个体的海马中，神经元仍旧不断更新，这一区域跟学习和记忆特异性相关。成年个体机能的可塑性似乎和特定的神经元组的更新相联系（改编自 B. Barres，*Cell* 97：667～670，1999）

神经干细胞可用于补充中枢神经系统细胞

如果说表皮是最简单和最容易再生的组织之一，那么中枢神经系统（CNS）则是成年个体最复杂和最难以重建的系统。在成年哺乳动物内，脑和脊索几乎没有自我修复的能力，并且难以找到能产生新神经元的干细胞。实际上直到近期，这种干细胞还一度被认为是根本不存在的。

然而现在普遍认为具有产生神经元和神经胶质细胞能力的中枢神经系统神经干细胞确实存在于成年哺乳动物脑内。而且，在脑中某些特定的区域，神经干细胞持续产生新的神经元来更新死亡的神经元（图 22-58）。在特定的鸣禽体内神经元周转更新的范围非常广，它们每年都大量死亡，再被新生的神经元替代，通过这种途径，每个繁殖季节这些鸣禽都可以学习并记住一种新的鸣啭方式。

在啮齿类动物实验中，从成年个体的脑中采集神经干细胞，体外培养，再植入宿主动物脑中，使得干细胞产生分化后代。明显地，移植细胞似乎会调节自身的行为来适应新环境。植入嗅球前体通路（图 22-58）的海马干细胞将产生正确并入嗅球的神经元，反之亦然。这些发现说明，即使神经细胞的种类和神经连接极其复杂，但仍有可能利用神经干细胞修复至少一些类型的中枢神经系统损伤和疾病，为此类病患带来了希望。

成年个体组织的干细胞可能比想象的更具多能性

在身体的其他部位是否也潜藏着具有干细胞性质的未知细胞？既然胚胎干细胞可以沿着我们想要的任何途径分化，那么有没有可能诱导成体组织的其他干细胞产生非常规的细胞后代？

已经有强有力的证据对上述问题作出了肯定的回答。例如，有报道说将来自成年个体脑的神经干细胞注入已被 X 射线杀灭造血细胞库的鼠体内，就可产生新的造血细胞；直接注入肌肉组织时，发现它也可生成骨骼肌细胞。

另一个重要的例子是：当把来自成年个体的骨髓细胞注入接受了 X 射线照射的宿主内，将不仅产生新鲜的造血细胞，而且还可产生其他多种细胞，包括肺细胞和肝细胞。骨髓细胞可惊人地产生肝细胞（和其他一些种类的细胞），这在接受骨髓移植来治疗白细胞过多症的鼠和人类体内都得到了证实，因为在宿主肝脏内发现展示遗传标记、证明来源于供体的完全分化肝细胞。鼠实验说明在此情况下肝细胞专一性的来自骨髓中的造血干细胞。

当宿主的肝细胞自身存在缺陷或被损坏时，就会刺激移植细胞增殖补充，这样的肝脏中具有大量来源于供体的造血细胞的肝细胞。但是，这种细胞转变是否容易发生仍不清楚。或许即使放置在适宜异种细胞的培养环境中，任何造血干细胞转变为异种细胞的可能性还是比较低的。迄今为止，对于何种转变可以发生以及哪些因子刺激或抑制转变仍不明了。

直接取自成体组织的干细胞在组织修复的许多方面都非常有用，但是在其他方面的应用可能更具潜力。例如，利用成体组织产生具“个体标记”的胚胎干细胞，即和机体待修复的成年患者基因组一样的胚胎干细胞。多利羊和其他哺乳动物的克隆已经为这一应用指明了道路。卵细胞核被人为地替换为成年体细胞核后，这个杂交细胞可继续发育成一个完整的个体，该个体的基因组和提供体细胞的成体完全一致（图 7-2）。虽然绝大多数人反对用人来做这样的实验，但是从杂交细胞最直接的后代获取干细胞已经成为可能，其技术类似于从鼠早期胚胎中取得胚胎干细胞。

在这些探索应用于实际之前，还有很多严肃的伦理道德问题和技术难题亟待解决克服。或许有其他更好的方法可用来使成体细胞重新回到胚胎细胞的多能状态。但是目前细胞生物学研究也开始着眼于利用各种方法来改进机体本身的组织修复机制，在这方面已取得的进展和那些对人工修复机制的研究一样值得关注。

小结

在正常成体内，不同类型的干细胞负责不同组织的更新。然而由于一些组织不存在干细胞，因此似乎不能产生新细胞修复自身。近年来的发现开创了人工操纵干细胞行为的方法，从而可以修复以前看来不能修复的组织。取自严重烧伤患者未损坏的表皮干细胞可在体外培养快速增殖，再植回患者体表重建表皮覆盖烧伤处。神经干细胞只存在于成年哺乳动物脑部的有限几个区域，当植入正在发育的或损坏的脑，就可以根据植入点的位置产生新的神经元和神经胶质。

胚胎干细胞（ES 细胞）在机体内可以分化为任何类型的细胞，在体外培养条件下也可被诱导分化为多种细胞。当将某些成体组织（如骨髓）的干细胞置于一个适宜的环境中时，似乎能产生比正常情况下多得多的分化细胞类型。干细胞生物学上的这些发现为多种重症的治疗带来了希望。

参考文献

一般文献

Fawcett DW (1994) Bloom and Fawcett: A Textbook of Histology, 12th edn. New York/London: Arnold/Chapman & Hall.

Kerr JB (1999) Atlas of Functional Histology. London: Mosby.

Marshak DR, Gardner RL & Gottlieb D (eds) (2001) Stem Cell Biology. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Young B & Heath JW (2000) Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas, 4th edn. Edinburgh: Churchill Livingstone.

Epidermis and Its Renewal by Stem Cells

Fuchs E (1998) Beauty is skin deep: the fascinating biology of the epidermis and its appendages. *Harvey Lect.* 94, 47–77.

Imagawa W, Yang J, Guzman R & Nandi S (1994) Control of mammary gland development. In The Physiology of Reproduction (Knobil E & Neill JD eds), 2nd edn, pp 1033–1063. New York: Raven Press.

Jensen UB, Lowell S & Watt FM (1999) The spatial relationship between stem cells and their progeny in the basal layer of human epidermis: a new view based on whole-mount labelling and lineage analysis. *Development* 126, 2409–2418.

Nguyen AV & Pollard JW (2000) Transforming growth factor beta3 induces cell death during the first stage of mammary gland involution. *Development* 127, 3107–3118.

Steinert PM (2000) The complexity and redundancy of epithelial barrier function. *J. Cell Biol.* 151, F5–F8.

Watt FM (2001) Stem cell fate and patterning in mammalian epidermis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11, 410–417.

Sensory Epithelia

Buck LB (2000) The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell* 100, 611–618.

Gillespie PG & Walker RG (2001) Molecular basis of mechanosensory transduction. *Nature* 413, 194–202.

Howard J & Hudspeth AJ (1988) Compliance of the hair bundle associated with gating of mechanoelectrical transduction channels in the bullfrog's saccular hair cell. *Neuron* 1, 189–199.

Masland RH (2001) The fundamental plan of the retina. *Nat. Neurosci.* 4, 877–886.

Mombaerts P, Wang F, Dulac C et al. (1996) Visualizing an olfactory sensory map. *Cell* 87, 675–686.

Morrow EM, Furukawa T & Cepko CL (1998) Vertebrate photoreceptor cell development and disease. *Trends Cell Biol.* 8, 353–358.

Stone JS & Rubel EW (2000) Cellular studies of auditory hair cell regeneration in birds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 11714–11721.

The Gut and Its Appendages

Conlon I & Raff M (1999) Size control in animal development. *Cell* 96, 235–244.

Ganz T (2000) Paneth cells—guardians of the gut cell hatchery. *Nat Immunol* 1, 99–100.

Korinek V, Barker N, Moerer P et al. (1998) Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nat. Genet.* 19, 379–383.

Michalopoulos GK & DeFrances MC (1997) Liver regeneration. *Science* 276, 60–66.

Stappenbeck TS, Wong MH, Saam JR et al. (1998) Notes from some crypt watchers: regulation of renewal in the mouse intestinal epithelium. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 702–709.

Wright NA (2000) Epithelial stem cell repertoire in the gut: clues to the origin of cell lineages, proliferative units and cancer. *Int. J. Exp. Pathol.* 81, 117–143.

Blood Vessels and Endothelial Cells

Folkman J & Haudenschild C (1980) Angiogenesis in vitro. *Nature* 288, 551–556.

Folkman J (1996) Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci. Am.* 275(3), 150–154.

Risau W (1997) Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 386, 671–674.

Semenza GL (1998) Hypoxia-inducible factor 1: master regulator of O_2 homeostasis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8, 588–594.

Shima DT & Mailhos C (2000) Vascular developmental biology: getting nervous. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 10, 536–542.

Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW et al. (2000) Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 407, 242–248.

Renewal by Pluripotent Stem Cells: Blood Cell Formation

Metcalf D (1980) Clonal analysis of proliferation and differentiation of paired daughter cells: action of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on granulocyte-macrophage precursors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 5327–5330.

Metcalf D (1999) Stem cells, pre-progenitor cells and lineage-committed cells: are our dogmas correct? *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 872, 289–303; discussion 303–304.

Nutt SL, Eberhard D, Horcher M et al. (2001) Pax5 determines the identity of B cells from the beginning to the end of B-lymphopoiesis. *Int. Rev. Immunol.* 20, 65–82.

Orkin SH (2000) Diversification of haematopoietic stem cells to specific lineages. *Nat. Rev. Genet.* 1, 57–64.

Weissman I, Anderson DJ & Gage FH (2001) Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 387–403.

Wintrobe MM (1980) Blood, Pure and Eloquent. New York: McGraw-Hill.

Genesis, Modulation, and Regeneration of Skeletal Muscle

Andersen JL, Schjerling P & Saltin B (2000) Muscle, genes and athletic performance. *Sci. Am.* 283(3), 48–55.

Lee SJ & McPherron AC (1999) Myostatin and the control of skeletal muscle mass. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 9, 604–607.

Naya FS & Olson E (1999) MEF2: a transcriptional target for signaling pathways controlling skeletal muscle growth and differentiation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 683–688.

Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A et al. (2000) Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell* 102, 777–786.

Weintraub H, Davis R, Tapscott S et al. (1991) The myoD gene family: nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science* 251, 761–766.

Fibroblasts and Their Transformations: the Connective-tissue Cell Family

Ahima RS & Flier JS (2000) Leptin. *Annu. Rev. Physiol.* 62, 413–437.

Ducy P, Schinke T & Karsenty G (2000) The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 289, 1501–1504.

Martin P (1997) Wound healing—aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276, 75–81.

Rosen ED & Spiegelman BM (2000) Molecular regulation of adipogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 145–171.

Teitelbaum SL (2000) Bone resorption by osteoclasts. *Science* 289, 1504–1508.

Stem-cell Engineering

Brustle O, Jones KN, Learish RD et al. (1999) Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 285, 754–756.

Clarke D & Frisén J (2001) Differentiation potential of adult stem cells. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11, 575–580.

Donovan PJ & Gearhart J (2001) The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature* 414, 92–97.

Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M et al. (2000) Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat. Med.* 6, 1229–1234.

Schulz JT, 3rd, Tompkins RG & Burke JF (2000) Artificial skin. *Annu. Rev. Med.* 51, 231–244.

Suhonen JO, Peterson DA, Ray J & Gage FH (1996) Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo. *Nature* 383, 624–627.

23 癌　　症

癌症的形成是一个微进化过程
可预防的癌症病因
癌症关键基因的发现
癌细胞行为的分子基础
癌症治疗：现在与未来

癌细胞利用各种可能性来打破多细胞有机体得以构建和维持的最基本的行为规则。我们在研究越亲现象时发现了这些正常规则以及怎样来执行这些规则。因而，在细胞生物学中，癌症具有独一无二的重要性。与癌症领域自身相比，强调癌症研究给予医学知识领域更为深刻的影响。

在前述章节中，我们已经讨论了癌症研究的许多分支。确实，在与癌症作斗争过程中所做的努力导致了细胞生物学领域的许多基础性发现。许多与 DNA 修复（讨论见第 5 章）、细胞信号转导（讨论见第 15 章）、细胞周期和细胞程序死亡（讨论见第 17 章）以及组织结构（讨论见第 19 章）有关的蛋白质因其功能异常导致癌细胞不受控制的扩增、遗传缺陷和其他反社会行为特征而被发现。

在本章中，首先我们从细胞的观点来更加密切地关注癌症是什么，并审查疾病的自然历史。接着，我们回顾导致细胞癌变的分子变化。最后，我们讨论我们对癌症的分子基础的进一步理解正如何导致疾病预防和治疗方法的改进。

癌症的形成是一个微进化过程

动物的躯体作为一个社会或生态系统而运转，它的每个组成成员都是细胞，这些细胞通过细胞分裂而繁殖，并组织成合作性装置或者称为组织。之前，在讨论有关组织的维持时（讨论见第 22 章），我们的兴趣和生态学家的类似：细胞的生、死，栖息地，地域限制和群体大小的维持。一个显然不存在的生态学话题是自然选择，更不用说体细胞之间的竞争或突变。其原因是，就这方面而言，健康的躯体是一个非常特殊的社会，其规则就是自我牺牲——这是与适者生存相对立的。最终所有的体细胞系都注定要死亡：它们没有留下子代，却将它们自身转而用于支持生殖细胞，因而只有生殖细胞才有生存的机会。这没有什么神秘的，因为整个机体就是一个克隆，所以体细胞的基因组与生殖细胞的相同。体细胞因为生殖细胞的缘故而作的自我牺牲有助于传递其自身基因的复制品。

因而，与自由生活的细胞（如细菌，它们通过竞争而生存）不同，多细胞有机体的细胞注定要进行合作。为了协调其行为，细胞发送、接收和解析一套精细复杂的信号，用以进行社会控制，告诉每个成员如何行动（讨论见第 15 章）。结果，每个细胞都以一种社会责任的方式来行动，即根据机体的需要来决定是静息、分裂、分化或是死亡。由于分子障碍而破坏这种和谐状态就意味着多细胞社会陷入困境。在超过 10^{14} 个细胞的人体中，每天都有几十亿个细胞经历着突变，这可能会破坏这种社会控制。最为危险的是，一个突变可能会给予某个细胞一种选择优势，允许它比周围细胞更快的进行分裂，因而成为一个逐渐长大的突变体克

隆的奠基者。由该合作团体的单个成员产生的这种自私行为的突变可能会给整个机体的未来埋下祸根。在有机体细胞内部重复进行几轮突变、竞争和自然选择使得事态愈演愈烈。癌症的基本要素是：它是这样一种疾病，即突变的单个细胞以牺牲周围细胞为代价而大量增殖形成克隆，并最终破坏整个细胞社会。

我们在本节讨论癌症作为微进化过程而发展。机体的细胞群体在经历数月或数年之后，这一过程才得以发生，但它依赖于支配所有活的有机体长期进化相同的突变和自然选择原理。

癌细胞的无限增殖和移居异质组织

癌细胞依据两个遗传特性来定义：它们或它们的后代通过①打破正常的细胞分裂限制而增殖，以及②侵入并移居在正常情况下属于其他细胞的领地。正是由于这些行为综合在一起而使得癌症特别危险。一个独立的异常细胞如果不会比它周围的正常细胞增殖更快，那么它就不会造成明显的危害，无论它可能还具有什么其他令人不快的特性。但是，如果它的增殖失去控制，就会引发肿瘤，或称赘生物（neoplasm），即一团无限增殖的异常细胞。然而，只要赘生细胞仍然以单细胞团簇生在一起，就说该肿瘤是**良性的**（**benign**）。在这一阶段，通常可通过手术切除该团块而完全治愈。只有当肿瘤呈**恶性**（**malignant**）时，即只有当其细胞获得了侵入周边组织的能力时，才被认为是癌症。通常，侵入力是指逃脱、进入血流或淋巴管、在身体其他部位形成继发性肿瘤（称为**转移**，图23-1）的能力。癌症扩散越广，就越难根除。

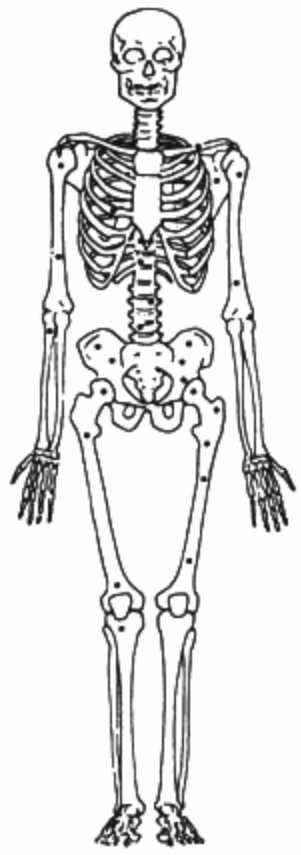


图 23-1　转移

恶性肿瘤通常都发生转移，因而使得癌症难以根除。这幅素描图显示前列腺癌在骨髓中转移的常见位点（摘自 Union Internationale Contre le Cancer, TNM Atlas: Illustrated Guide to the Classification of Malignant Tumors, 2nd edn., Berlin: Springer-Verlag, 1986）

癌症根据其发生的组织和细胞类型来分类。由上皮细胞产生的癌症称为**癌**（**carcinoma**）；由结缔组织或肌细胞产生的癌症称为**肉瘤**（**sarcoma**）。不适于这两种广泛分类的任何一种的癌症包括来源于造血细胞的各种**白血病**（**leukemia**）和来源于神经系统细胞的癌症。图 23-2 显示了美国常见的癌症类型、发病率及其死亡率。根据其特殊的细胞类型、在身体中的部位以及肿瘤结构的不同，这种广泛分类的每一种都可分为许多亚类；许多命名都是由传统固定下来，并没有任何现代的理性基础。

与恶性肿瘤的名称相对应，还有一组相关的名称用于描述良性肿瘤。例如，腺瘤（adenoma）是一种具有腺状结构的良性上皮肿瘤，相应的恶性肿瘤类型则称腺癌（adenocarcinoma）（图 23-3）；同样地，软骨瘤（chondroma）和软骨肉瘤（chondrosarcoma）分别是软骨的良性和恶性肿瘤。大约 90%的人类癌症是癌，很可能是因为机体内的大部分细胞增殖发生于上皮，或者因为上皮组织非常频繁的暴露于有利于癌症发生的各种类型的物理和化学损伤。

每种癌症都有反映其起源的特性。因而，例如，源自皮肤内角质化干细胞的上皮基底细胞癌（basal-cell carcinoma）的细胞，通常将继续合成细胞角蛋白中等纤维，而源自皮肤色素细胞的黑色素瘤（melanoma）的细胞常常（但并非总是如此）会继续制造色素颗粒。一般而言，源自不同细胞类型的癌症是彼此各不相同的疾病。例如，基底细胞癌仅仅是局部性的侵入，很少会发生转移，而黑色素瘤如果不被迅速切除，就会变成恶性的，并迅速引起多种转移（在发育期间使正常色素细胞前体出现迁移倾向的行为，在第 21 章中讨论）。通常，基底细胞癌很容易通过手术切除而被完

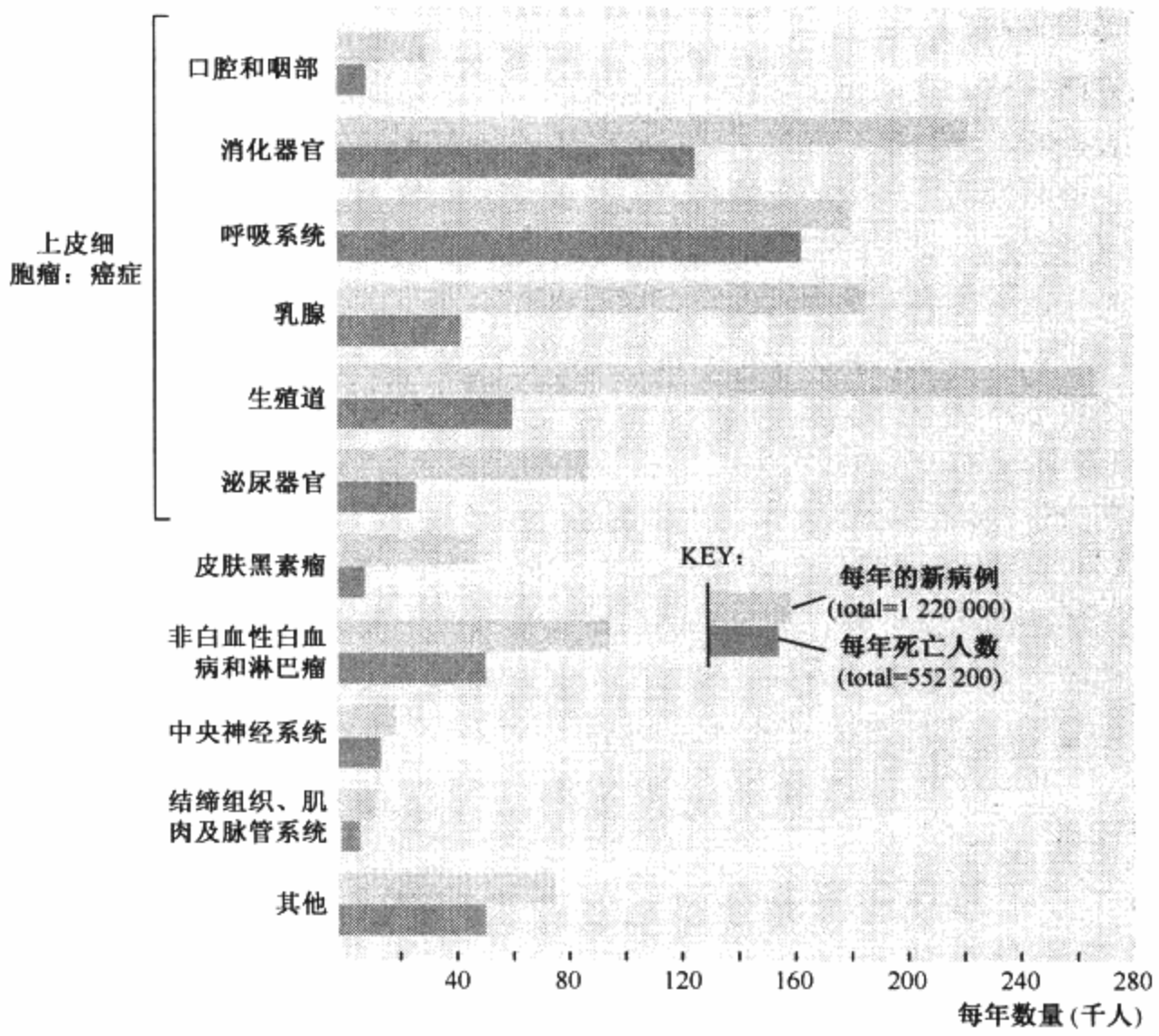


图 23-2　美国的癌症发病率和死亡率

这些数字是代表 2000 年度的数字。美国在那一年诊断出来的新病例总数是 1 220 000，癌症死亡总数是 552 200。注意仅有半数发展成癌症的患者死亡。全世界 5 种最常见的癌症是肺癌、胃癌、乳腺癌、结肠/直肠癌和宫颈癌，每年记录的癌症新发病例总数仅有 600 多万。图中包括了黑色素瘤而没有皮肤癌，因为几乎所有的皮肤癌都被轻易地治愈，许多病例没有记录下来（数据来自美国癌症协会编撰的 Cancer Facts and Figures，2000）

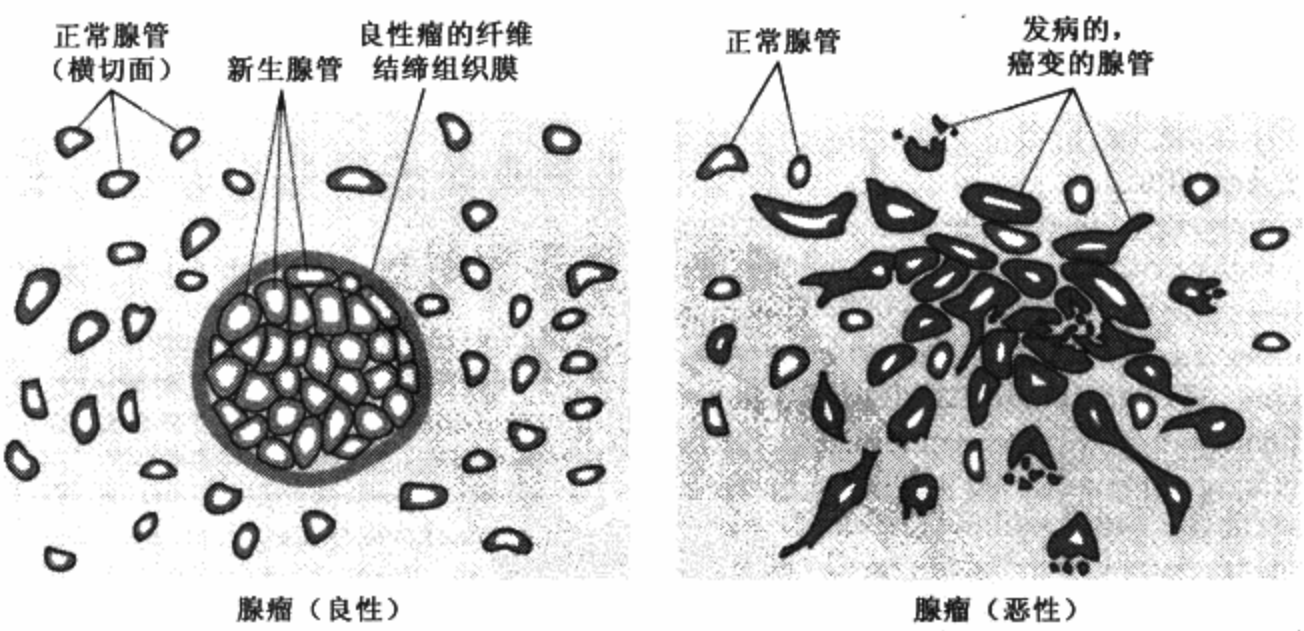


图 23-3　良性肿瘤与恶性肿瘤

良性腺状肿瘤（腺瘤）和恶性腺状肿瘤（腺癌）在结构上明显不同。此类肿瘤有许多形式，图中解释了乳房中可能发现的类型

全治愈；但恶性黑色素瘤一旦广泛转移，常常不可能彻底根除，因而是致命的。

大多数癌症来源于单个异常细胞

即使癌症已转移，其来源通常仍可追索溯至单个**原发肿瘤**（产生于一个确定的器官），并通过细胞分裂推断它来自单个细胞，该细胞经历了某些遗传变化因而比周围细胞生长得更快。然而，在首次检测到一个典型的肿瘤时，它已经包含了约 10 亿个细胞或更多（图 23-4），常常包括许多正常细胞，如与癌有关的支持性结缔组织中的成纤维细胞。有什么证据来证明癌细胞实际上是来源于单个异常细胞的一个克隆呢？

有关克隆进化的一个明确实证是来自对肿瘤细胞染色体的分析。染色体变异或重排出现在大多数癌细胞中。例如，在几乎所有患有慢性髓细胞性白血病（chronic myelogenous leukemia）的患者中，白血病的白细胞可通过特异的染色体异常与正常细胞区分：如图 23-5 所示，所谓的费城染色体就是通过 9 号和 22 号染色体长臂之间的易位而产生的。克隆并测序易位处的 DNA，易位片段的断裂和再结合位点在任何一个患者的所有白血病细胞中是完全相同的，但是，正如所期望的一样，如果每例白血病都起源于发生在单个细胞内的一次独特意外事件，那么患者之间就会略有差异（几百或几千个碱基对）。稍后我们会看到，这种费城染色体易位怎样通过不适当地激活一个特殊的基因而导致白血病。

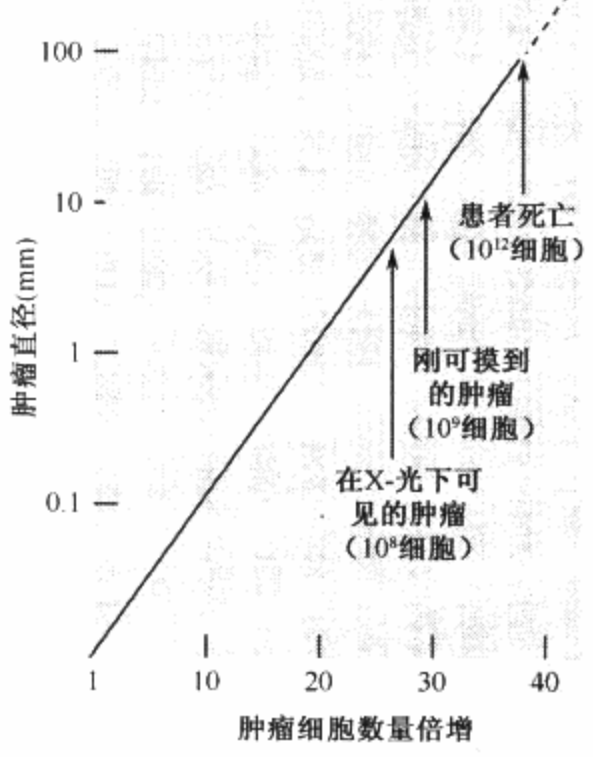


图 23-4　典型人类肿瘤例如乳腺肿瘤的生长
肿瘤的直径按对数尺度标绘。肿瘤变得引起注意可能需要经过数年。例如，典型乳腺肿瘤的倍增时间约为 100 天

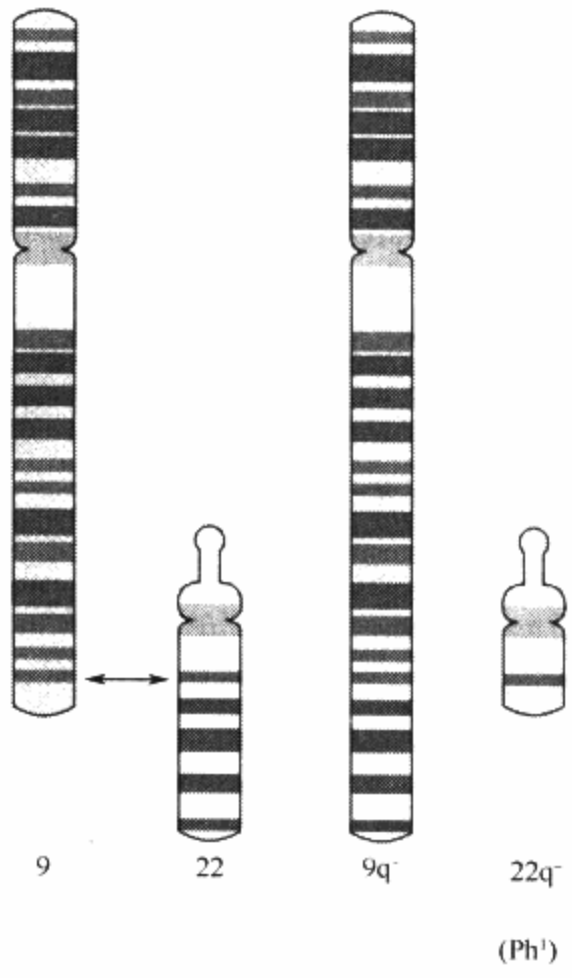


图 23-5　9 号和 22 号染色体之间的易位与慢性髓细胞性白血病有关
由此而产生的两条异常染色体中，较小的那条染色体根据该异常首先被记录的城市而命名被称为费城染色体

来自多种癌症的许多证据都得出同样的结论：大多数癌症都起源于单个异常细胞（图 23-6）。

由体细胞突变引起的癌症

如果单个异常细胞注定会引发肿瘤，那么它必须将其异常传递给后代，即这种异常必须

是可遗传的。理解癌症的第一个问题就是发现可遗传的变异是否是由于遗传改变，即细胞 DNA 序列的变更，或是由于后生变化（epigenetic change），即 DNA 序列不变而基因表达模式改变。可遗传的后生变化反映了细胞记忆，发生于正常发育过程中，这在分化状态的稳定性以及 X 染色体失活和印记现象（讨论见第 7 章）中得到充分表现。并且，还发现这种后生变化与某些癌症的发生有关。

然而，有充分的理由认为绝大多数癌症度是由遗传改变而引起。第一，正如刚才描述过的慢性髓细胞性白血病，许多癌症的细胞内都有明显区别于肿瘤周围细胞的异常 DNA 序列。

第二，许多已知可引发癌症的因子同样会引起遗传改变。因而，**致癌作用（carcinogenesis）**（癌症的发生）似乎与诱变作用（mutagenesis）（产生 DNA 序列的改变）相联系。有三类因子显然具有这种相关性：**化学致癌剂**（通常引起核苷酸序列的简单局部改变）、电离辐射（如 X 射线，通常引起染色体断裂和易位）和病毒（将外源 DNA 导入细胞）。稍后，我们将在癌症的可预防因子一节中详细讨论每一种因子。

最后，对疾病天生很敏感的人的研究支持癌症是以体细胞变异为基础的结论。在大部分病例中，对癌症的易患性可追溯至这些个体的 DNA 修复机制存在某种类型的遗传缺陷，这种缺陷使得它们越来越快地积累突变。例如，患有着色性干皮病（xeroderma pigmentosum）的患者在修复由紫外光引起的 DNA 损伤的细胞系统中存在缺陷，他们非常易于患皮肤癌。

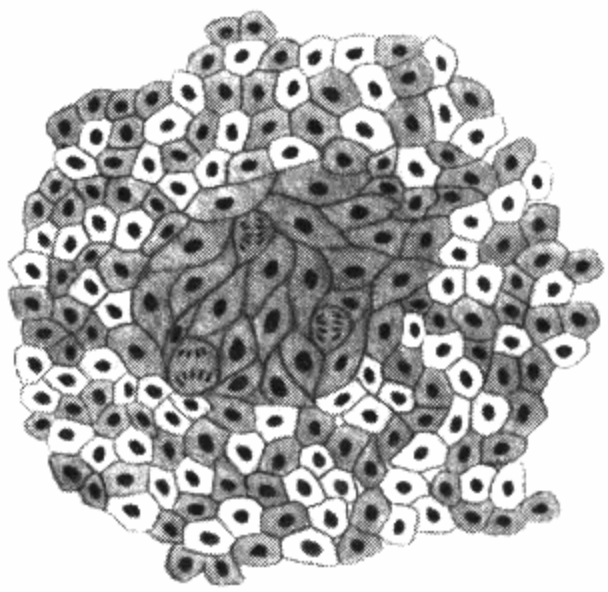


图 23-6　来自 X 染色体失活嵌合体的证据证明癌症的单克隆起源

作为发生于早期胚胎的一个随机过程的结果，实际上，妇女体内的每个正常组织都是一个由带有不同的遗传失活 X 染色体的细胞组成的混合体（此处用红色细胞和灰色细胞组成的混合体表示正常组织）。然而，当癌细胞被用于测试一个 X 连锁标志基因的表达时，常常发现它们使相同的 X 染色体失活。这暗示着它们都来源于单个癌性的生成细胞

单个突变不足以引发癌症

估计正常人体在一生中会发生 10^{16} 次细胞分裂；小鼠由于其细胞数目更少、寿命更短，该数字约为 10^{12}。甚至在没有诱变因素的环境中，突变自然发生的速率是每次细胞分裂每个基因约有 10^{-6} 个突变——根据 DNA 复制和修复的精确度而界定的一个值。因而，在人一生中，每个基因都可能经历了约 10^{10} 次独立的突变事件，小鼠约为 10^{6} 次。在这些突变细胞中，预期会有许多调节细胞分裂的基因出现障碍，因此而背离细胞增殖的正常限制。根据这一观点，癌症问题似乎不是为何会发生癌症，而是癌症为何发生得如此稀少。

显然，如果单个突变足以使一个典型的健康细胞转变成无限增殖的癌细胞，那么我们都将不会是有生命的有机体了。许多类型的证据都表明，癌症的发生通常要求有几个独立稀有的事件发生于一个细胞的谱系中。有这样一个适应证，是来自以癌症发病率作为年龄的函数的流行病学研究（图 23-7）。如果一个单一突变每年以固定的概率发生，那么在任意特定的时间内产生癌症的机会应该与年龄无关。实际上，对大多数类型的癌症来说，发病率随年龄迅速上升，如果癌症是由于在单品系细胞内缓慢积累众多的随机突变而引起，那么这就是意料之中的事（癌症发病率在年长个体中增加的另外一个原因会在后面涉及复制性细胞衰老的论题时加以讨论）。

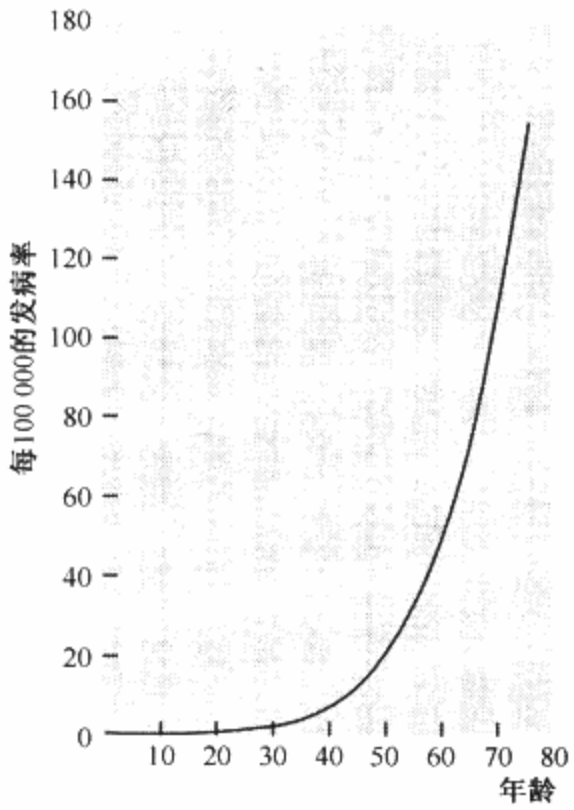


图 23-7　癌症发病率是年龄的函数

在英国和威尔士的妇女一年内新诊断的结肠癌病例数是年龄（诊断时）的函数，以相对于每个年龄组的个体总数表示。癌症发病率随年龄的增加急剧上升。如果只要有单个突变就能引发癌症，并且这种突变的发生在任何时候都有相等的机会，那么发病率就与年龄无关（数据来自 C. Muir 等编著的 Cancer Incidence in Five Continents, Vol. V. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1987）

既然已经鉴定了负责癌症发生的许多特异性突变，那么我们就能直接检测在某个特殊病例中是否存在这些突变。此类检测显示，单个恶性细胞通常都包含有多个突变。动物模型也证实，单个这些遗传改变不足以产生癌症：在小鼠体内进行的遗传工程试验发现，通常单一突变仅对组织生长产生轻度变异，跟着偶尔形成及随机散在的良性肿瘤；但在突变动物体内的绝大多数细胞仍然是非癌性的。

癌症发生需要许多基因（也许 10 个或更多）发生突变的概念与追溯到许多年前有关**进行性肿瘤**现象的大量信息相一致，因此，细胞行为的初期轻度障碍逐渐演化成一个成熟的肿瘤。正如我们接下来解释的那样，有关肿瘤怎样发生的这些观察结果也有助于阐明正常细胞成为癌细胞所必需的变化的性质。

从轻度变异细胞缓慢发展而来的癌症

对于那些有明显外部诱因的肿瘤来说，通常在暴露于致病因素后很长一段时间才发病：肺癌发病率在重度吸烟 10 年或 20 年之后才开始迅速上升；广岛和长崎的白血病发病率在原子弹爆炸 5 年后才明显上升；特定期间暴露于化学致癌剂的产业工人通常在暴露后 10 年、20 年甚至更多年后才出现癌症（图 23-8）。

在如此漫长的潜伏期间，未来的癌细胞经历一系列的变化。那些初期遗传变化没有如此明显的外部原因的癌症也是如此。前面提到的慢性骨髓性白血病就是一个清楚而简单的例子。这种疾病开始是以白细胞非致死性过量增殖为特征的一种病理障碍，并持续几

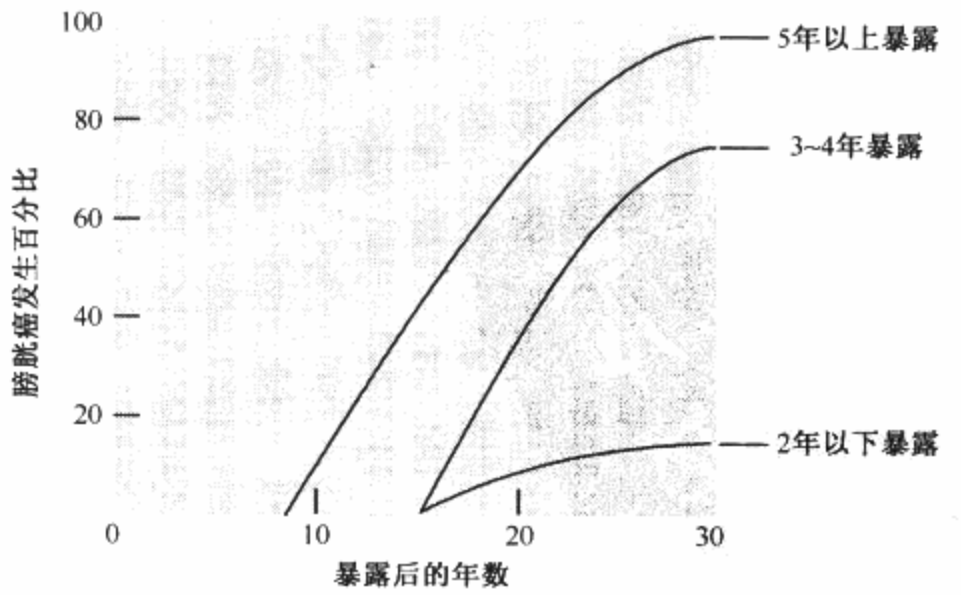


图 23-8　暴露于致癌物后癌症的延缓发生

图中表明，暴露于致癌剂 2-萘胺的 78 名化工工人在膀胱癌发生前延缓的时间长短，图中分类的依据为暴露时间的长短［改编自 J. Cairns 编著的 Cancer: Science and Society. San Francisco: W. H. Freeman, 1978. After M. H. C. Williams, in Cancer, Vol. Ⅲ (R. W. Raven, ed.). London: Butterworth Heinemann, 1958］

年时间，然后转化成一种增殖迅速得多的进行性疾病，并且通常在几个月内死亡。在慢性早期阶段，体内白细胞的显著特征主要是前面提到过的染色体易位（尽管很可能还有其他一些不易觉察的遗传改变）。在该病随后的急性期，造血系统中那些不仅表现出这种染色体异常而且还表现出其他几种异常的细胞泛滥成灾。那些早期突变克隆的成员似乎发生更多突变，使得其增殖更为迅速（或者在它们死亡或终止分化前分裂的次数更多），结果它们在数量上超过正常造血细胞及那些仅有原发性染色体易位（费城染色体）的类似细胞。

一般认为，癌症和其他实体瘤以类似的方式进化。尽管人类中大多数这种癌症直到晚期才诊断出来，但是在少数几种情况下，在疾病发展的早期阶段也可观察到。本章我们将要讨论的一个例子是结肠直肠癌（colorectal cancer），另外一个例子是宫颈癌。一般认为这些癌症来源于子宫颈开口处的上皮细胞。

这种上皮细胞的结构在妇女育龄的不同时期经历着生理学变化。在可以产生疾病的条件

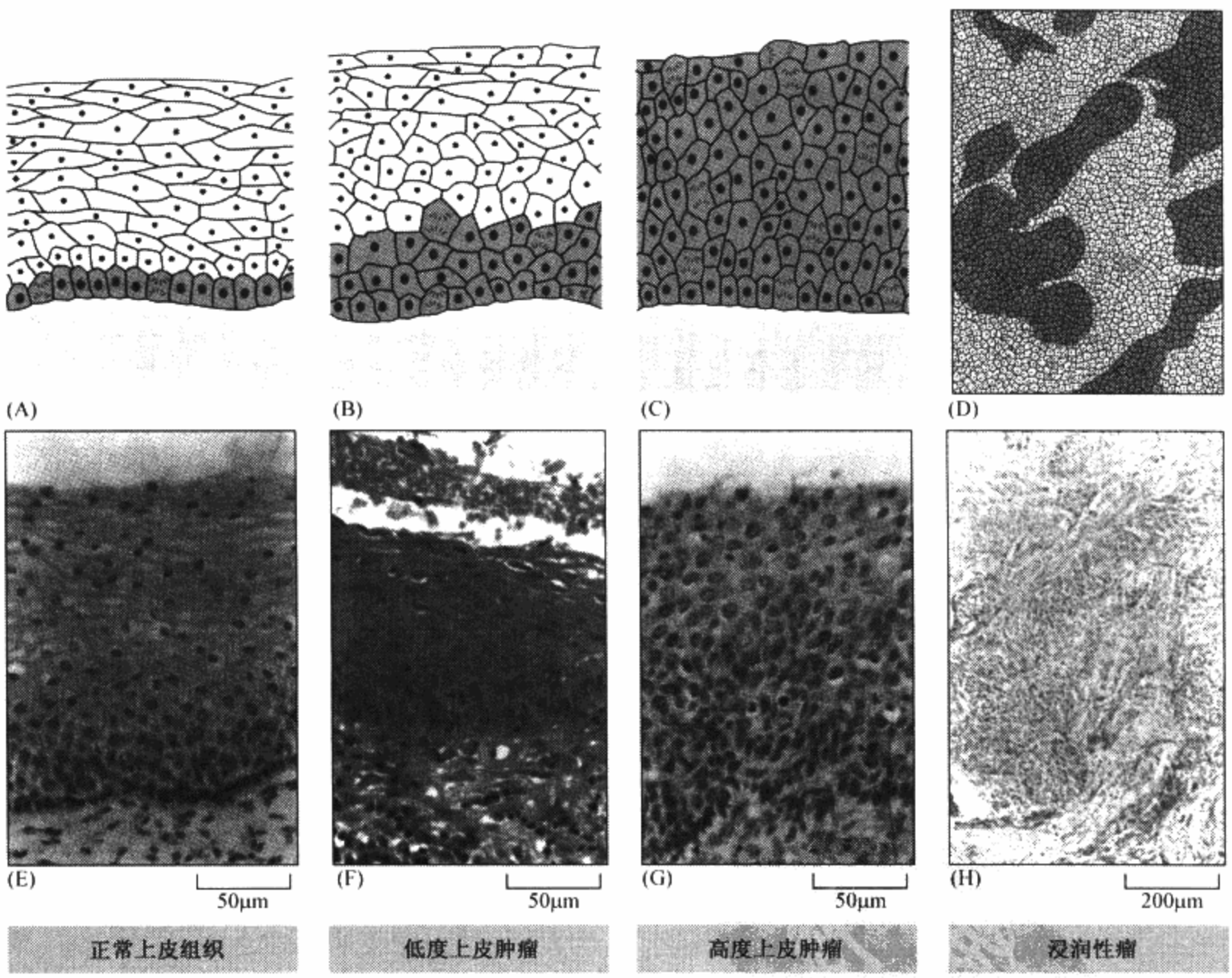


图 23-9　子宫颈上皮癌发育过程的几个阶段

病理学家用标准命名法将他们见到的病症类型进行分类，以便指导选择不同的疗法。示意图如（A）～（D）所示；相对于这些改变的子宫颈上皮切面如（E）～（H）所示。（A）～（E）在正常复层扁平上皮中，分裂细胞局限于基底层。（B）、（F）在低度恶性上皮内瘤形成中，分裂细胞可在上皮组织下 1/3 所有各处发现；表面细胞仍然是扁平的并显示出分化的迹象，但这是不完全的。（C）、（G）在高度恶性上皮内瘤形成中，所有上皮细胞层中的细胞正在增殖，且不显示分化迹象。（D）、（H）当细胞穿过或破坏基底层炳侵入下面的结缔组织时，真正的恶性肿瘤才开始（照片经 Margaret Stanley 许可）

下，在易于发生癌症的宫颈区的细胞首先组织为层状（多层）鳞状上皮［图 23-9（A）、(E)］，结构上与皮肤表皮或口腔内衬细胞类似。在这些层状上皮中，通常仅在基底层发生增殖，产生的细胞随后移至表面；这些细胞在移动时进行分化，形成扁平的富含角蛋白的非分裂细胞，这些细胞在到达表面时脱落。然而，在检查来自不同妇女的宫颈表皮标本时，通常可以发现一些斑点区域以暗示出现癌性转化的方式破坏这一结构。病理学家将这种改变描述为上皮内瘤形成（intraepithelial neoplasia），并将其分类为低度（温和）或高度（从中等到严重）改变。

在低度损伤中，分裂细胞不再被局限于基底层，而是处于表皮下 1/3；尽管上 1/3 继续分化，但只是轻微的病变［图 23-9（B)、(F)］。如果任其发展，这些轻微损伤大部分将会自然退化，但有一小部分（约 10%）可能会进一步转变成为高度损伤。在这些更严重的异常斑点中，大部分或全部表皮层被未分化的分裂细胞占据，这些细胞和细胞核的大小形状通常是高度变异的。常常可见异常有丝分裂相，核型通常也是异常的，但异常细胞仍然局限于基底膜的表皮侧［图 23-9（C)、(G)］。此类损伤可通过在显微镜下观察从宫颈表面刮去的细胞标本来检测（巴氏涂片技术，图 23-10）。在此阶段，通过外科手术破坏或切除异常组织来完全治愈仍然很容易。

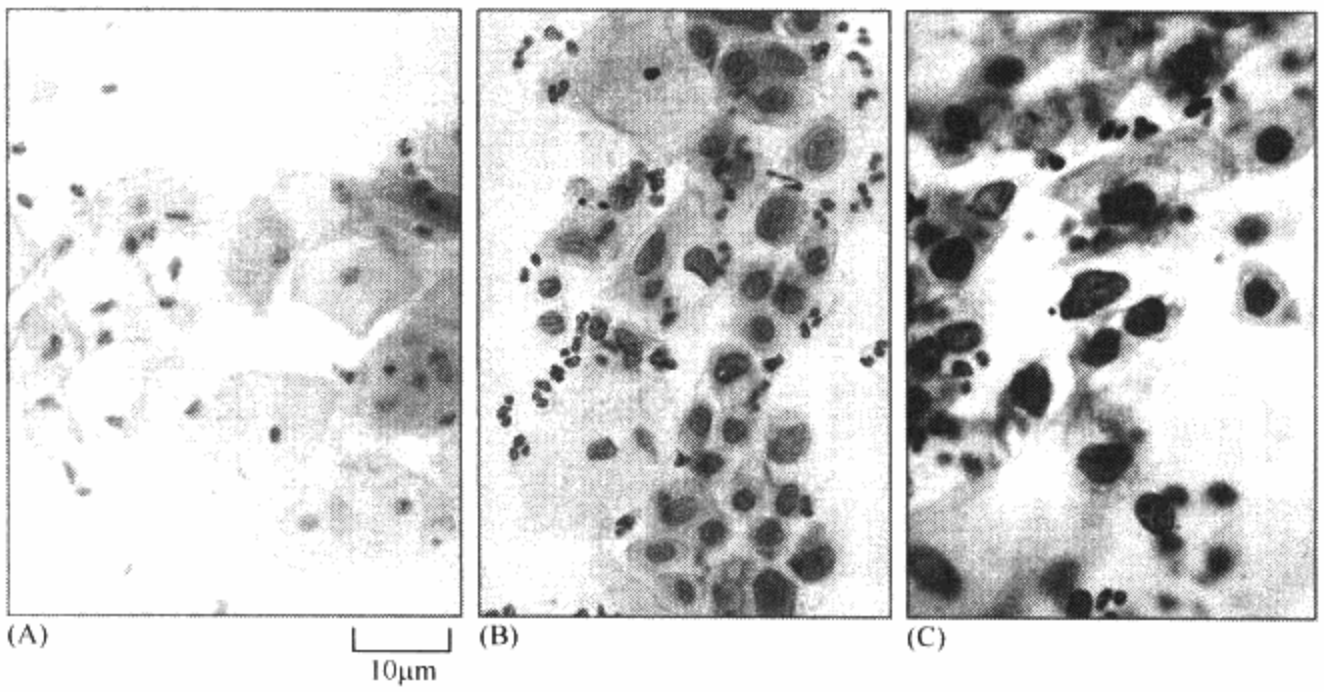


图 23-10　子宫颈表面刮下的细胞照片（巴氏涂片技术）

（A）正常：细胞大且分化良好，具有高度浓缩的细胞核。（B）癌变前损伤：分化和增殖异常，但损伤还不是侵入性的；细胞处于分化的各种不同阶段，一些还相当不成熟。（C）浸润性癌：细胞都处于未分化状态，细胞胞质极少且有相对较大的细胞核。本底中的碎片包括一些白细胞（经 Winifred Gray 许可）

如果不予以治疗，异常组织可能只是继续存在而不会进一步发展下去，甚至可能自然退化；但至少 30%～40%的病例将会进一步发展下去，并在数年内产生浸润性癌［图 23-9 (D)、(H)］——一种恶性损伤，细胞越过或破坏基底层，侵入下面的组织，并通过淋巴管转移。随着侵袭性生长的蔓延，手术治疗变得越来越困难。

进行性肿瘤包含连续几轮突变和自然选择

正如我们所看到的，一般而言，癌症似乎是通过某种过程而产生，在此过程中，轻度变异细胞的起始群体（单个突变祖先的后代）通过一系列的突变和自然选择循环愈演愈烈。在每一阶段，当一个细胞获得一个额外突变后，相对邻近细胞就具有一种选择优势，使之更能在此环境中生长——在肿瘤内，此环境可能很恶劣，含氧量低，缺乏营养，以及周围正常组

织而造成的生长的天然障碍。这种已适应环境的细胞后代将会继续分裂，最终取代肿瘤并在损伤的持续发展中成为优势无性繁殖系（图 23-11）。

因而，当发生有利突变且含有这些突变的细胞大量繁殖时，肿瘤便断断续续地长大。肿瘤的进化过程包含大量偶然性并且常常需要数年，而我们大部分人都会在癌症形成之前死于其他疾病。

为何需要如此之多的突变呢？一个原因就是细胞性进程通过一些复杂的相互关联的方式而受到调控，细胞利用众多的调控机制来协助维持对其行为的严谨而精确的调控。因而在细胞摆脱其正常限制并以恶性癌细胞的方式进行活动之前，必须破坏许多不同的调控系统。另外，在进化过程的每一个阶段，肿瘤细胞的进一步扩张都可能遭遇新的障碍。例如，氧气和营养直到肿瘤直径达到 1.2cm 时才成为限制因素，此时肿瘤内部的细胞可能无法充分接近这些必需资源。每种新的障碍，无论是身体的还是生理的，都必须通过额外获得突变来克服。

一般而言，任何群体的进展程度都将可能依赖于以下 4 个主要参数：①突变率，即任何特定的群体成员在单位时间内每个基因经历遗传改变的概率；②群体中的个体数目；③繁殖率，即单位时间内后代繁殖的平均代数；④成功突变个体拥有的选择优势，即单位时间内它们繁殖并生存下来的可育后代数与非突变个体繁殖并生存下来的可育后代数的比率。正如地球表面有机体的演化一样，这些都是多细胞有机体中癌细胞演化的关键因素。

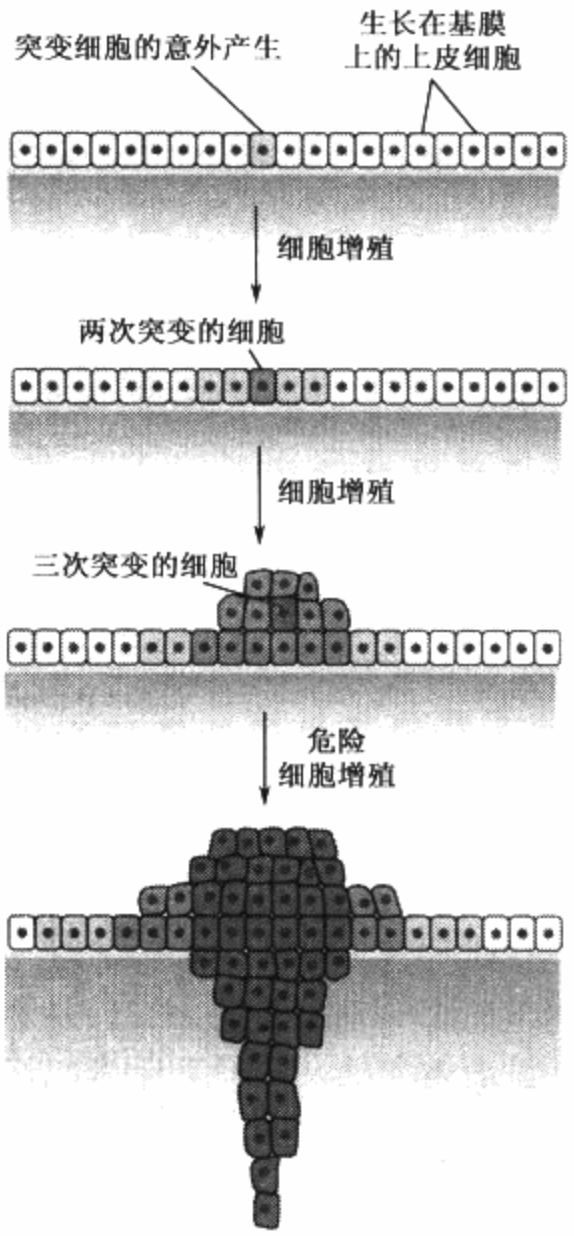


图 23-11　克隆演变

肿瘤发育经过反复几轮突变和增殖，最终产生一个完全恶性化的癌细胞克隆。在每一步，一个单个细胞经历一个增强细胞增殖的突变，结果其后代成为肿瘤中的显性克隆。然后，这个克隆的增殖冒着遭受额外突变的危险增加细胞群体的大小，使进行性肿瘤的下一步加速出现

显然，向癌症发展的程度依赖于除改变单个癌细胞基因型之外的许多因素。同样显而易见的是，有许多很不一样的遗传特性可能有助于癌细胞的成功演化。在较后章节中，我们将在分子水平上检查赋予细胞这些特性的改变。但首先，在一般意义上考虑关键特性指的是什么是有帮助的：对大多数癌细胞来说何种特殊性质是共同的，并对其恶劣行为负责。

大多数人类癌细胞在遗传上是不稳定的

大多数人类癌症都表现出突变率大大提高的迹象：据说，细胞在**遗传上是不稳定**的。这种易变性可能选取不同的形式。一些癌细胞修复局部 DNA 损伤或校正影响单个核苷酸的复制错误的能力有缺陷。这些细胞比正常细胞易于积累更多的点突变以及局部 DNA 序列的微小改变。其他癌细胞在维持其染色体的完整性方面有困难，因而其核型表现为数目异常（图 23-12）。从进化的观点来看，这并不奇怪：人们可能认为遗传不稳定性将会加速癌症的形成，由于这样会增加使细胞产生导致恶性肿瘤的突变的可能性。实际上，似乎某种程度的遗传不稳定性对于癌症的发育而言可能是必需的，至少似乎对癌症演进有重大影响。

甚至是来自相同组织的不同肿瘤也会表现出不同种类的遗传不稳定性，它们是由一组很

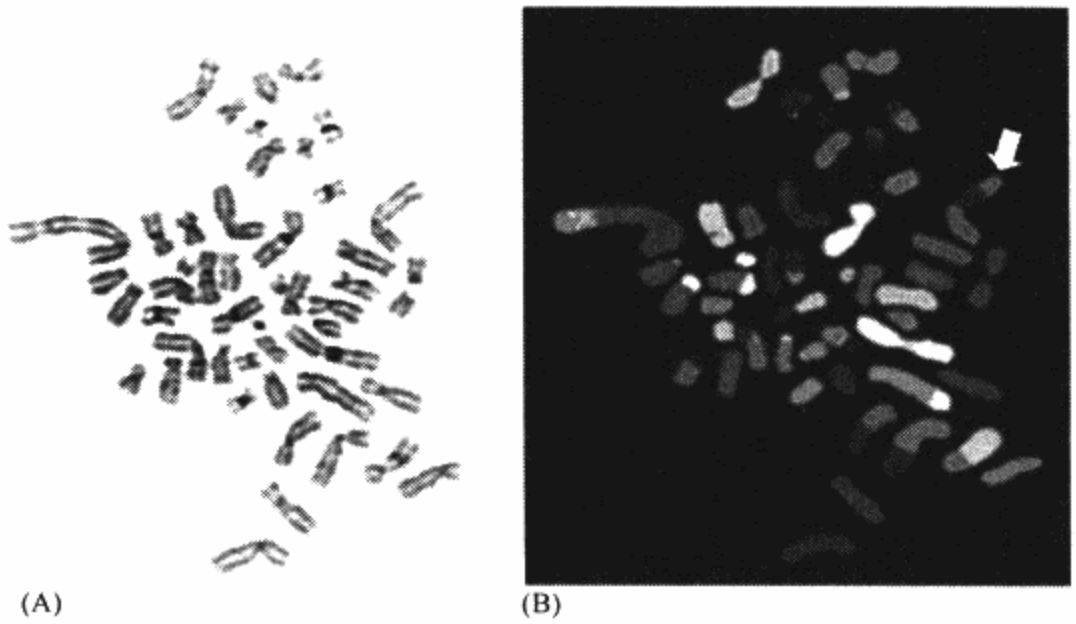


图 23-12　显示结构和数目异常的乳腺肿瘤染色体

染色体的制备是将乳腺肿瘤的中期细胞铺展至载玻片上，并用（A）通用 DNA 染料或（B）使每条正常人染色体染上不同颜色的荧光染料混合物染色。染色（显示为伪彩色）显示多重易位，包括由 8 号染色体的两个片段（绿色）和 17 号染色体的一个片段（紫色）组成的双易位染色体（白色箭头）。其核型包含 48 条染色体而不是正常的 46 条染色体（经 Joanne Davidson 和 Paul Edwards 许可）

特殊的基因发生突变而引发的，这些基因的产物对防止基因组发生改变是必需的。正如前面提到的一样，人们发现，如果将这些基因的突变遗传给了后代，那么他们的癌症发病率增加。虽然这种趋癌状态相对稀少，但是它们包括实际上对遗传稳定性必需的各种类型已知基因的突变，这进一步证实，无论癌症是怎样发生的，这种稳定性的丧失都可能在癌症发生中有重要作用。

大多数情况下，失稳突变是不遗传的，但是当肿瘤形成时，又会新形成突变，协助癌细胞比邻近细胞迅速得多的积累突变。然而，注意到遗传不稳定性本身并不会给予细胞以选择优势是重要的。相反，遗传不稳定性实际上破坏了细胞的适应性，这是由于大多数随机突变是有害的。因而，一个遗传上不稳定的细胞在选择上将是不利的，除非它有额外的特性，或者设法增加赋予某些竞争优势的额外突变。似乎存在某种最适水平的遗传不稳定性有利于癌症的发生，使细胞有足够的易变性进行恶劣的演化，但并不至于导致其死亡（图 23-13）。

癌性生长常常依赖于对细胞死亡和细胞分化控制的缺陷

正如突变率的增加能使癌演进的可能性增加一样，任何能使突变细胞数目增加的环境条件亦是如此。源自早期突变的突变细胞克隆越大，那么由于额外突变导致癌演进的可能性也就越大，直至其恶性生长完全摆脱控制。因而，在癌症发生的每个阶段，有助于细胞数目增加的突变是至关重要的。

突变怎样才能有这种效果呢？最显而易见的途径就是增加细胞分裂率。实际上，促使细胞免于对细胞分裂的正常限制的突变是癌症的共同特征，关于这一点我们将在后面详细讨论。然而，已经越来越清楚，此类突变并不是增加细胞是数目的唯一机制——或者说并不必定是最重要的。在正常的成熟组织中，特别是那些有癌化危险的组织，细胞可能会持续不断的进行增殖，但其数目仍然保持稳定，这是由于细胞的增殖与消亡相平衡所致。正如我们在第 17 章和第 22 章中所看到的那样，由细胞凋亡而引起的程序性细胞死亡在这种平衡中常常发挥重要作用。如果细胞产生太多，凋亡率就会增加，以去除过剩的细胞。因此，癌细胞最重要的

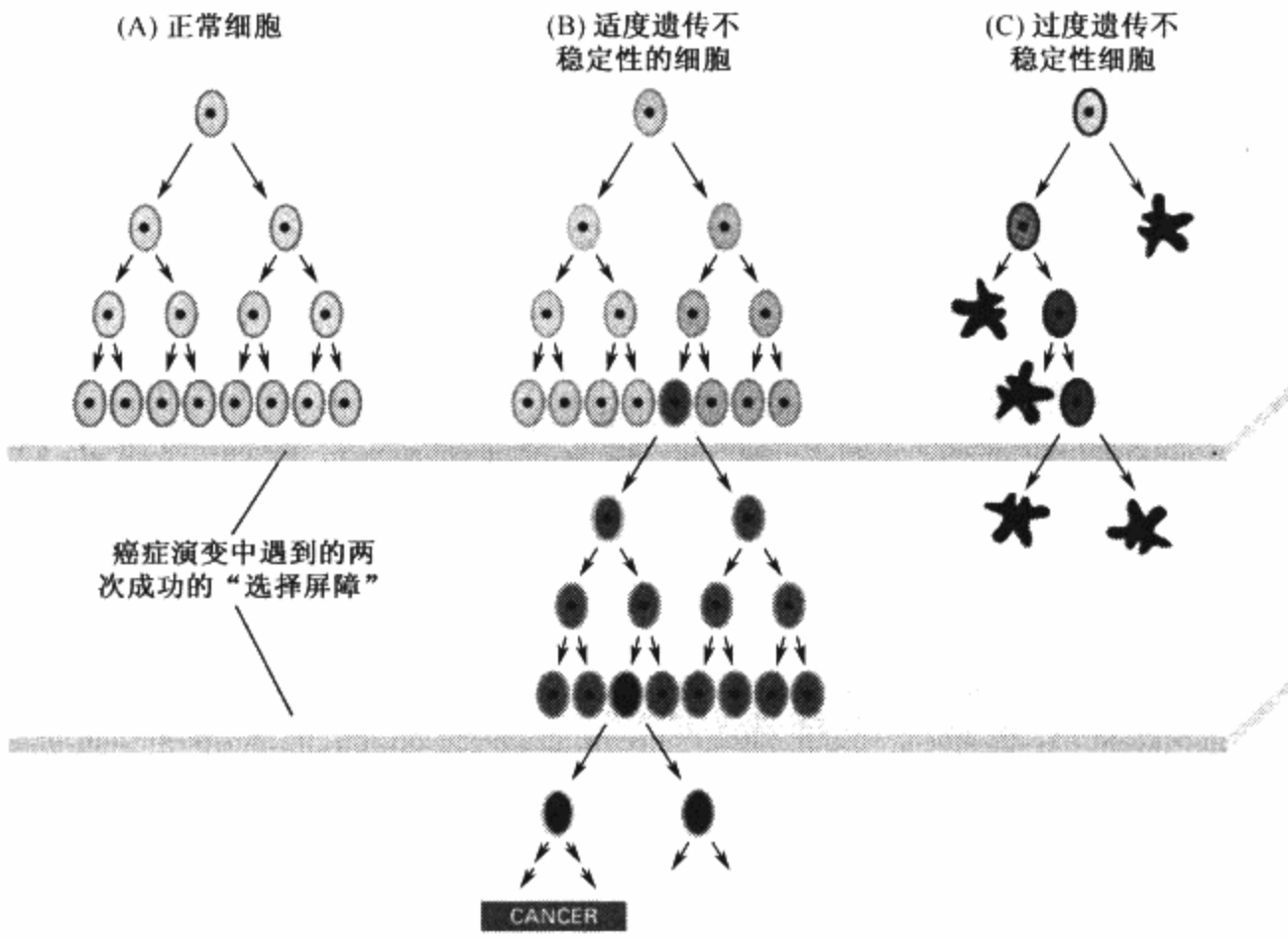


图 23-13　遗传不稳定性和进行性肿瘤

遗传不稳定性维持在最佳水平的细胞最有可能形成肿瘤。(A) 在正常细胞中，遗传不稳定性的实际量很低。因此，当正常细胞遭遇到选择性障碍时（例如，低水平的氧气或者缺乏增殖信号）它们极不可能有足够的可变性以产生一个持续分裂的细胞。(B) 在肿瘤前驱细胞中，遗传不稳定性水平的增加使得至少有一个细胞含有通过选择性障碍并继续进行性肿瘤进程所必需的遗传改变。这种遗传不稳定性被固定在细胞谱系中，并可在由此形成的肿瘤中检测到。(C) 如果遗传不稳定性水平太高，那么这些细胞中许多都会遭受有害突变，或者比其周围细胞的增殖慢得多，或者通过细胞死亡而被清除。这种过高的可突变性能导致细胞谱系的根绝（改编自 D. P. Cahill 等编著的 *Trends Cell Biol*. 9：M57～M60，1999）

特性之一就是，它们不会像正常细胞那样，产生过多时会自杀。

正如早先讨论时所述子宫颈的情况一样，突变也能通过改变其分化能力来增加突变细胞克隆的大小。与皮肤表皮和其他许多表皮类似，子宫颈表皮通常是通过从外表面脱落终末分化细胞并从基底层干细胞产生的细胞予以补充而持续进行自我更新。平均起来，每个正常干细胞分裂产生一个子代干细胞和一个注定为停止分裂的终末分化细胞。如果干细胞分裂更快，那么就会产生终末分化细胞并更快的脱落，但仍将维持发生和破坏之间的平衡。因而，对一个产生稳定生长的突变子代克隆的异常干细胞而言，其基本规则必定是出乎意料的：或者大于 50%子代细胞必须仍然是干细胞，或者分化过程必须遭受破坏，结果在这一路线上的子代细胞不知何故仍然保持继续不确定分裂和避免死亡或者在生产线末端被清除的能力（图 23-14）。

这些特性的发展也许是子宫颈上皮内瘤形成从低度进展到高度和恶性癌症的基础（图 23-9）。对依赖于干细胞的其他组织中的癌症的发育也可作类似的考虑，例如，皮肤、消化道内表面和造血系统。举例来说，有几种形式的白血病似乎都产生于正常分化程序的破坏，结果特殊类型血细胞的忠实后代继续不确定地进行分裂，而不是以正常途径进行终末分化以及经历严格有限分裂周期数之后而死亡（这在第 22 章中讨论过）。

总之，阻止细胞向非分裂的终末分化状态转变的正常成熟过程的改变或阻止正常程序性死亡的改变在许多癌症中都起到必不可少的作用。

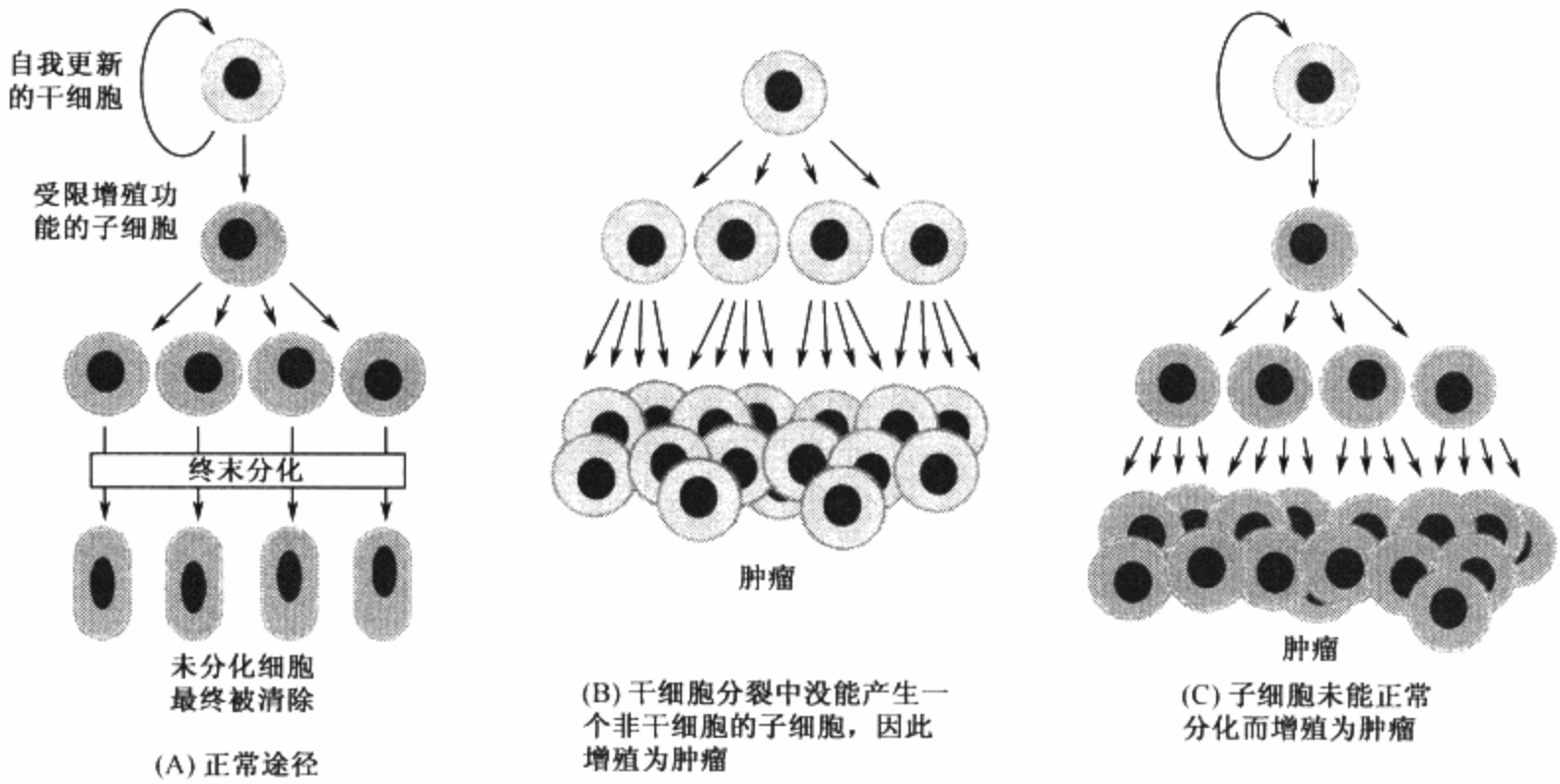


图 23-14　来自干细胞的细胞生产的正常调控和紊乱调控

（A）产生新的分化细胞的正常策略。（B）和（C）能引起增殖失控（癌症的特性）的两类紊乱。注意，（A）中干细胞的过高细胞分裂率不会自动产生这种效应，只要每次细胞分裂只产生一个干细胞性质的子细胞

许多癌细胞都脱离固有的细胞增殖界限

许多癌细胞在它们成熟为终末分化的专门化细胞时停止分裂。然而，分化并不是能阻止细胞增殖的唯一条件。当细胞受到压迫或探测到有 DNA 损伤时也会停止分裂。进一步说，大多数正常的人细胞当从组织中取出并在体外培养以检测它们的增殖能力时，其分裂次数似乎表现出某种既定的限制。一旦细胞达到特定数目的群体倍增数（如人成纤维细胞倍增 25～50代）它们就完全停止增殖，此过程称为**复制性细胞衰老**（**replicative cell senescence**，第 17 章中已讨论）。可能发生的情况是，当人变老时，一些细胞可能到达这种增殖限制特别是需要不断更新的组织中，如表皮或消化道内表面。如果在这种环境中的细胞继续分裂以致产生癌瘤，那么它就逃脱了复制性衰老的束缚。实际上，癌细胞在体外培养检测时常常表现“不死性”：与正常细胞不同，它们持续无限地进行分裂。

当这些事实完全建立起来的时候，对它们怎样与癌症的疾病过程相联系仍不十分清楚。尽管有体外培养的这些发现，但有关复制性衰老在未与外界接触的人正常组织中的重要性的实质性信息仍然很少。一种观点认为，复制性衰老是保护我们免于癌症的一种有效机制，即癌细胞不得不突破的一个附加障碍。另一种观点认为，大多数组织中的细胞实际上在人一生中永远不会到达复制性衰老，癌细胞的“不死性”仅仅是选择它们必须具备的其他某种特性的一种负效应。本章后面将会讨论到，最近的一些研究提出了与前两种完全不同的第三种观点。随着人的变老，正常组织中的许多细胞都经历着复制性衰老，并减缓或停止增殖，由此而产生的环境使得癌细胞持续进行快速分裂，因而生长更加迅速。根据这种观点，复制性衰老绝不会使我们免于肿瘤，相反会产生适于突变细胞的滋养环境，并使这些细胞逃离正常控制、侵袭组织，因而它们不会有来自附近正常的衰老细胞的竞争。允许持续增殖的突变可能同时具有其他癌性特性，如遗传不稳定性或全面脱离细胞周期控制，结果逐渐表现出更加失常的行为。通过这种方式，在自我更新组织中的复制性细胞衰老可能会有利于癌瘤的发生，

这可能是为什么癌症主要是一种老年性疾病的部分原因。

分子水平的研究可能不久就会弄清楚这种情况。在本章后面我们将会看到，人细胞中复制性细胞衰老与端粒（由重复性 DNA 序列和位于每条染色体两端的相关蛋白质组成）的缩短有关。同时，讨论若干癌症怎样通过危险途径产生，即某些突变可能允许细胞逃脱正常细胞在其端粒过短时所遭遇的细胞分裂障碍。

恶性癌细胞在一种异己环境中生存和增殖才能转移

转移（metastasis）是癌症最可怕也是了解得最少的一面。癌症向全身扩散，因而几乎不可能通过外科手术或局部放射治疗而根除。转移本身就是一种多阶段的病变过程：细胞必须脱离原发性肿瘤、侵入局部组织和血管并在远处建立新的细胞集落。本质上，这些事件中的每一个都是相当复杂的，所涉及的细胞机制仍不明了。

一个癌细胞若要转移，它首先必须与母瘤分离，而这种脱离的关键就是侵入邻近组织的能力。这种侵袭力是给恶性肿瘤定义的特性，它展现了一种紊乱的生长型和凹凸不平的边缘，并侵入周围组织（图 23-3）。尽管侵袭力并没有被彻底弄清楚，但几乎可以肯定的是，它必定要破坏保持细胞与细胞之间正常联系的粘连机制。

此过程下一步就是逃离母瘤的邻域并在远处组织形成集落，这是一个复杂、缓慢而低效的行为，母瘤中很少有细胞能够如此。为了成功地转移，细胞必须穿透血管或淋巴管，横跨基底膜和脉管内皮被覆以进入循环系统，从体内循环系统的其他部位退出，并在新环境中生存和繁殖（图 23-15）。许多癌瘤可能会侵入局部结缔组织，但在它们被发现和被手术切除之前并不会成功形成转移灶。仅有极小一部分恶性细胞能逃脱进入循环系统。实验表明，这些恶性细胞仅有极小一部分，数千个中不到一个，也许数百万个中的一个，才能存活下来形成转移灶。似乎辨别能形成转移灶的细胞的标准就是它们在异己部位存活和生长的能力。

人们认为，正常细胞依赖于那些不同于正常环境的分子存活信号；当丧失这些信号的时候，它们就激活其细胞死亡机制而进入细胞凋亡。与正常细胞相比，能转移的癌细胞常常对细胞凋亡具有相对抗性，因而从原来的适合生长部位逃离后能够存活并持续生长（图 23-16）。

除了所有这些条件之外，肿瘤必须有足够的血液供给才能长大。因而，血管发生，即新血管的形成，对原发性肿瘤和转移灶生长来说是必需的。尽管正常组织具有在需要时吸引增强血液供给的自发机制（讨论见第 22 章），但许多肿瘤还是通过触发增强血管发生信号的生成而获得快速生长。新生血管给肿瘤提供营养和氧气，它们也为转移细胞提供一条更易逃离的路线。

6 个关键特性使细胞能够进行恶性生长

显然，要成功发展成一个肿瘤，细胞必须在演化过程中获得一连串的异常特性，即一组具有破坏性的新特性。不同的肿瘤要求不同的特性组合。尽管如此，我们还是能大体上草拟出一张癌细胞关键行为的表：

1. 它们漠视调节细胞增殖的外部信号和内部信号。
2. 它们倾向于避免通过细胞凋亡而自杀。
3. 它们通过逃脱复制性衰老和避免分化而设法避开对增殖的程序性限制。
4. 它们在遗传上是不稳定的。
5. 它们自其原来的组织逃出（即它们是侵入性的）。
6. 它们在异地幸存和增殖（即它们是转移的）。

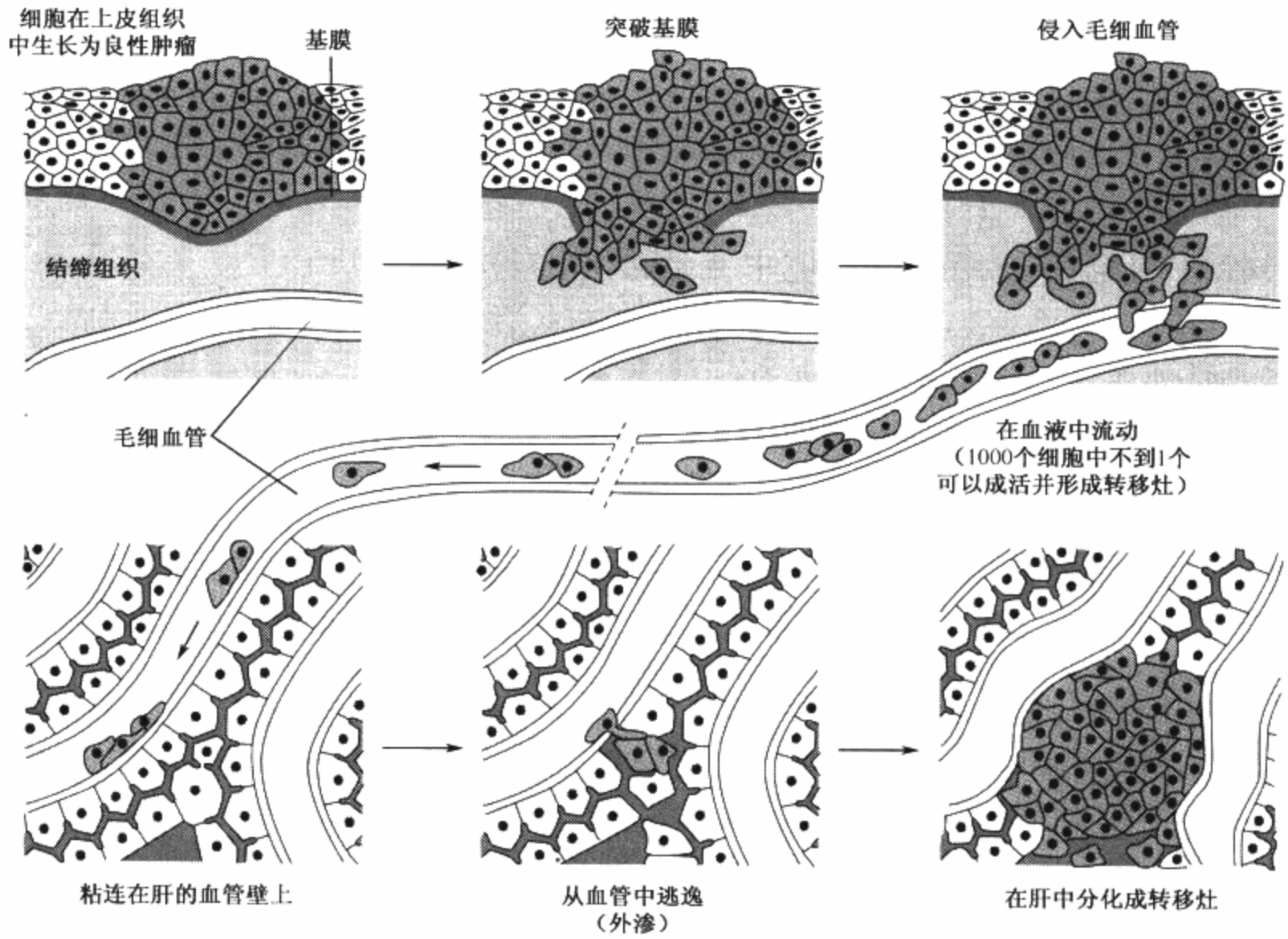


图 23-15　转移过程的步骤

本例解释一个肿瘤从一个器官如肺或膀胱到肝脏的扩散。肿瘤细胞可能通过横跨血管壁，或者更常见的是横跨淋巴管壁（最终将其内容物（淋巴）释放入血流）直接进入血流。进入淋巴管的肿瘤细胞常常在沿路的淋巴结中被捕捉，因而发生淋巴结转移。动物研究表明，在典型情况下，进入血流的每 1000 个恶性肿瘤细胞中远不到一个细胞将存活下来，并在新的位点产生肿瘤

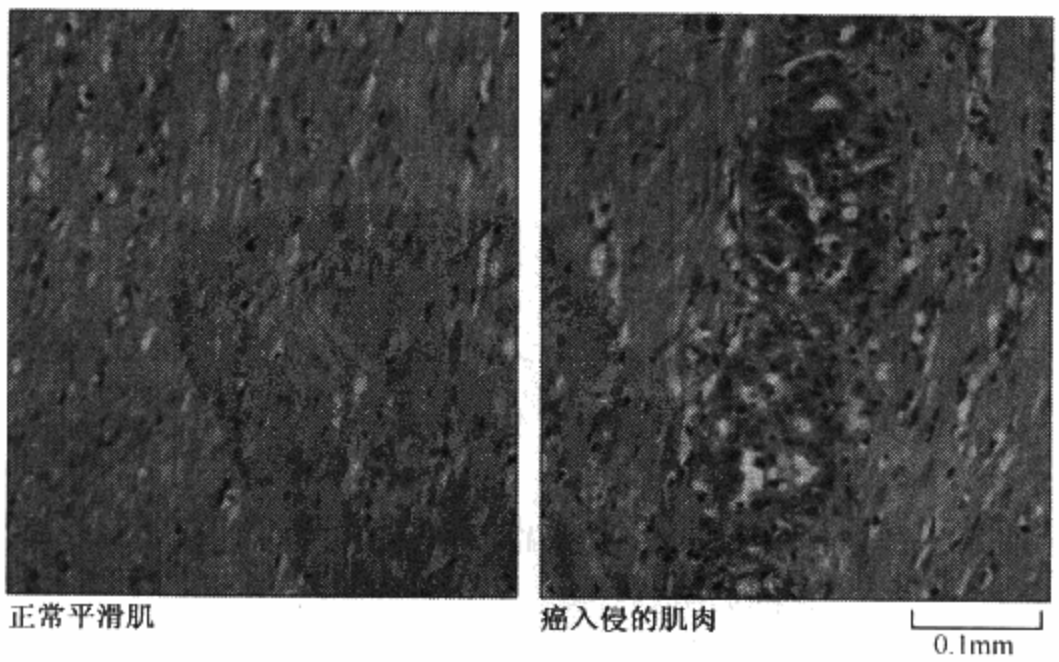


图 23-16　侵入结肠上皮组织下的平滑肌层的结肠癌

在这一组织切片中，可见到结肠直肠癌细胞正在肌纤维（粉红色）之间生长。此类癌症发育的一些阶段如图 23-38 所示。（经 Paul Edwards 和剑桥大学病理学系许可）

在本章的稍后几章，我们将会探讨这些特性的突变和分子基础。但首先，我们必须考虑那些有助于引发这种疾病的外部因素。

小结

根据定义，癌细胞在抗拒正常控制的情况下进行增殖（即它们是新生的），并能侵入和定居于周边组织（即它们是恶性的）。它们会引起继发性肿瘤或转移灶，因而变得难以通过外科手术根除。大多数癌症都被认为是源自经历原初突变的单个细胞，但是这个细胞的子代要癌化就需要大量的附加突变，因而必须经历进一步变化。进行性肿瘤的这种现象通常持续数年，反映了体细胞通过突变和自然选择而演化的不利作用。

癌症的合理疗法需要弄清楚癌细胞在演化、增殖和传播过程中所获得的特性。这些特性包括细胞信号通路的变更，促使肿瘤中的细胞忽视周围环境中维持细胞在严禁控制下正常增殖的信号。通过这种方式，细胞首先能在最初组织中异常增殖，然后才能转移，并在异己组织中生存和增殖。作为进行性肿瘤演化过程的一部分，癌细胞同样需要避免异常自杀，它们避免或破坏对增殖的程序性限制——包括复制性衰老和正常的分化途径，否则会妨碍其生长和分裂的能力。

既然赋予这一整套坏特性需要许多突变，那么，发现在 DNA 代谢各个方面都获得了一个或多个缺陷的几乎所有癌细胞都有异常突变能力的附加特性，很可能就不会令人奇怪了。这种遗传不稳定性加速细胞获得瘤形成和恶化所需的一套复杂突变。

可预防的癌症病因

肿瘤发生通常需要许多步骤，每个步骤都受多种因素支配——一些步骤依赖于个体的遗传组成，其他步骤则依赖于其环境和生活方式。癌症某种不能降低的背景发病率预期是与环境无关的：突变不可能绝对避免，因为它们是 DNA 精确复制主要局限性不可避免的结果，这在第 5 章中讨论过。如果一个人能活得足够长，那么他或她的细胞中至少有一个最终将会积累一套足以使癌症发生的突变。

然而，有证据表明，可避免的环境因素在大部分疾病病例发生中都起某种作用。这通过比较不同国家的癌症发病率可以得到最清楚地证明：对在一个国家流行的几乎每一种癌症，都有另一个国家其发病率低几倍（表 23-1）。因为迁移人群倾向于表现他们原来国家特有的癌症发病率模式，所以其差异似乎主要是由环境因素而不是遗传因素引起。根据这些数据估计，80%～90%的癌症都应该是可以避免的，或者至少是可以延缓的。不幸的是，不同的癌症有不同的环境危险因子，碰巧摆脱这种危险的群体通常又会遭受另一种危险。然而，这是不可避免的。有一些小群体，其生活方式实质上降低了特定年龄个体中的总癌症死亡率。在美国和欧洲的当前形势下，5 个人中约有一人死于癌症。但是，例如，在犹他州真正的摩门教徒中，癌症发病率一般约只有美国人的一半。在非洲某些相对富裕的人群中，癌症发病率也低。

尽管有关人群的这些观察表明，癌症常常是可以避免的，但在大多数情况下，鉴定特异性环境危险因子或建立它们起作用的模式是困难的。首先，我们将看到我们对已知引发癌症的外部因子已了解多少。然后，我们将考虑在发现预防人类癌症的方式方面的一些成功与困难。治疗问题将在考察了疾病的分子生物学之后在最后部分讨论。

表 23-1　不同国家之间某些常见癌症发病率的差异

癌症起点	高发病率人群		低发病率人群	
	地点	发病率*	地点	发病率*
肺	美国(纽奥尔良市,黑人)	110	印度(马德拉斯)	5.8
乳房	夏威夷(夏威夷人)	94	以色列(非犹太人)	14.0
前列腺	美国(亚特兰大,黑人)	91	中国(天津)	1.3
子宫颈	巴西(累西腓)	83	以色列(非犹太人)	3.0
胃	日本(长崎)	82	科威特(科威特人)	3.7
肝	中国(上海)	34	加拿大(新斯科舍)	0.7
结肠	美国(康涅狄格州,白人)	34	印度(马德拉斯)	1.8
黑素瘤	澳大利亚(昆士兰)	31	日本(大阪)	0.2
鼻咽	香港	30	英国(西南部)	0.3
食道	法国(卡巴度斯)	30	罗马尼亚(克鲁日都市)	1.1
膀胱	瑞士(巴塞尔)	28	印度(那格浦尔)	1.7
子宫	美国(旧金山海湾地区,白人)	26	印度(那格浦尔)	1.2
卵巢	纽西兰(波利尼西亚岛民)	26	科威特(科威特人)	3.3
直肠	以色列(欧洲和美国出生)	23	科威特(科威特人)	3.0
喉	巴西(圣保罗)	18	日本(Miyagi 乡村)	2.1
胰腺	美国(洛杉矶,朝鲜人)	16	印度(浦那)	1.5
唇	加拿大(纽芬兰)	15	日本(大阪)	0.1
肾	加拿大(西北地区和育空)	15	印度(浦那)	0.7
口腔	法国(下莱茵省)	14	印度(浦那)	0.4
非白血性白血病	加拿大(安大略省)	12	印度(那格浦尔)	2.2
睾丸	瑞士(沃州都市)	10	中国(天津)	0.6

* 发病率 = 每年每 100 000 人中出现的新病例数，根据标准化群体年龄的分布而校正（以便消除仅由于群体年龄分布的差异所造成的影响）。乳腺癌、宫颈癌、子宫癌和卵巢癌的数字用于妇女，其他数字用于男子（摘自 V. T. DeVita, S. Hellman 和 S. A. Rosenberg 编著的 Cancer: Principles and Practice of Oncology，第四版，费城：Lippincott，1993；数据来源于 C. Muir 等编著的 Cancer Incidence in Five Continents 第五卷 Lyon: International Agency for Research on Cancer，1987）。

许多但不是所有的致癌因子都损伤 DNA

能引起癌症的因子多而各异，但是最容易理解的是那些引起 DNA 损伤和产生突变的因子。这些致癌诱变剂包括化学致癌剂、病毒以及各种形式的辐射——紫外光和离子辐射，如来自放射性衰变的 γ 射线和 α 粒子。

当喂给实验动物或反复涂在它们的皮肤上时，许多很不一样化学药品都表现出致癌性，包括一系列芳香族碳氢化合物及其衍生物。例如，芳族胺、亚硝胺以及烷化剂，如芥子气。尽管这些化学致癌剂的结构不同，但它们至少有一个特性是共同的，即引起突变。在一个受欢迎的致突变性测试中，致癌剂与大鼠干细胞的活性提取物（模拟发生在正常无伤动物体内的生物化学过程）混合，加到专门设计的测试菌培养物中，然后测定细菌的突变率（图 23-17）。通过这种快速而方便的细菌测定法划为致癌剂的大多数化合物在用于哺乳动物细胞测试时，也会引起突变或染色体变异。当分析各种来源的致突变性资料时，人们发现大多数已鉴定的致癌剂都是诱变剂。

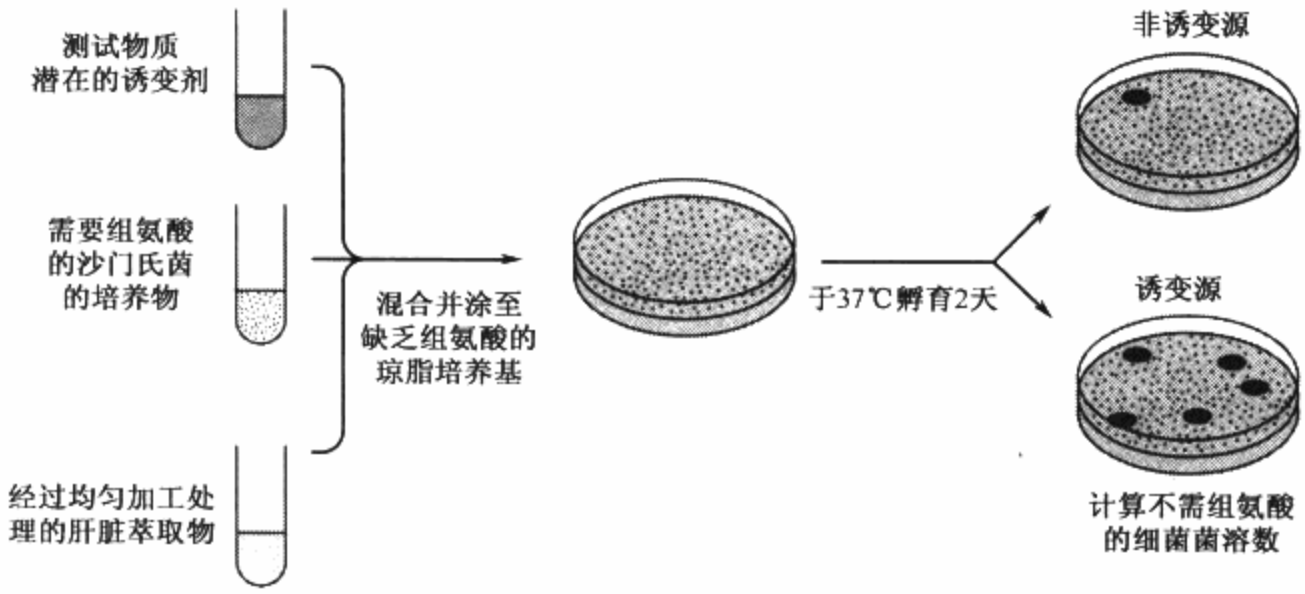


图 23-17　致突变性的埃姆斯试验

该试验使用一株在其培养基中需要组氨酸的沙门氏杆菌，因为该菌株中的一个组氨酸合成必需基因有缺陷。诱变剂能引起使该基因的缺陷逆转的进一步改变，产生不需要组氨酸的回复突变菌。为了增加试验的敏感性，该细菌还在其 DNA 修复装置中有缺陷，使之对损伤 DNA 的制剂尤其敏感。在试验中具有诱变性的大多数化合物也是致癌剂，反之亦然

在这些致癌剂中，少数几个直接作用于靶 DNA，但通常更有效的致癌剂是那些有相对化学惰性的制剂，并且只有在它们通过代谢过程（特别是通过一组被称之为细胞色素 P-450 氧化酶的胞内酶）转变成一种更具活性的形式时，才具有破坏性。在正常情况下，这些酶有助于将摄入的毒素转化成无毒的、易于排泄的化合物。不幸的是，它们的作用使某些化学药品产生高度致突变的物质。通过这种方式激活的致癌剂包括真菌毒素黄曲霉毒素 B1（图 23-18）和苯并芘，一种存在于煤焦油和烟草烟雾中的致癌化学药品。

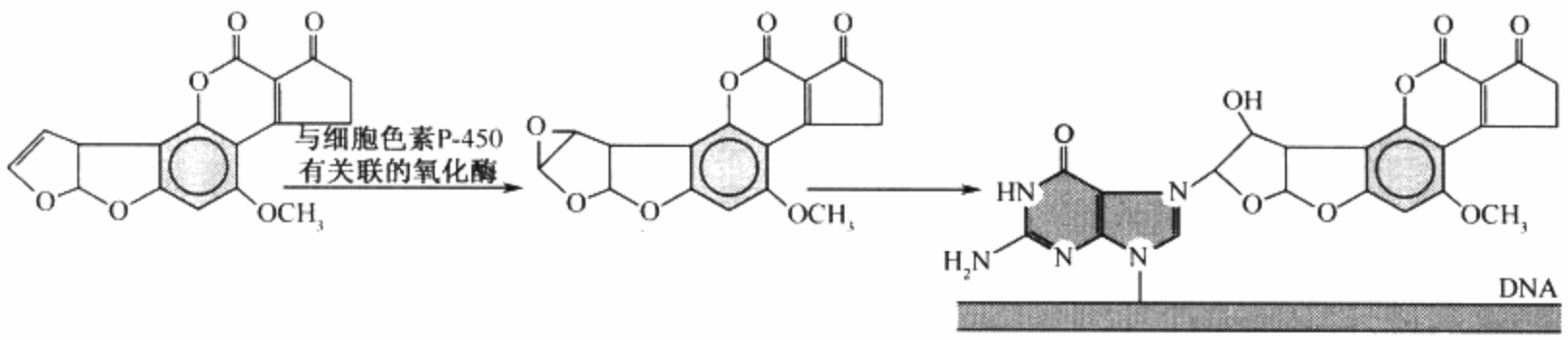


图 23-18　致癌剂的代谢活化

许多化学致癌剂在与 DNA 反应引起突变之前必须通过代谢转化而被活化。此处图解的化合物是黄曲霉毒素 B1，从生长在谷物和花生（当储藏在湿热环境时）上的一种霉菌（黄曲霉）提取的毒素。它被认为是热带肝癌的一种重要病因，与 *p53* 基因的特征性突变有关（在本章稍后部分讨论）

不改变细胞 DNA 序列的因素能加速癌瘤发生

然而，不是所有有利于癌瘤发生的物质都是诱变剂。一些最清楚的证据来自很久以前所作有关致癌化学药品对小鼠皮肤影响的研究（小鼠皮肤易于观察进行性肿瘤的各个阶段）。通过在皮肤上反复涂抹诱变化学药品致癌剂，如苯并芘或相关化合物二甲基苯并蒽（DMBA），能使小鼠诱发皮肤癌。然而，仅使用致癌剂通常并不会引发肿瘤或任何其他明显的持久异常。

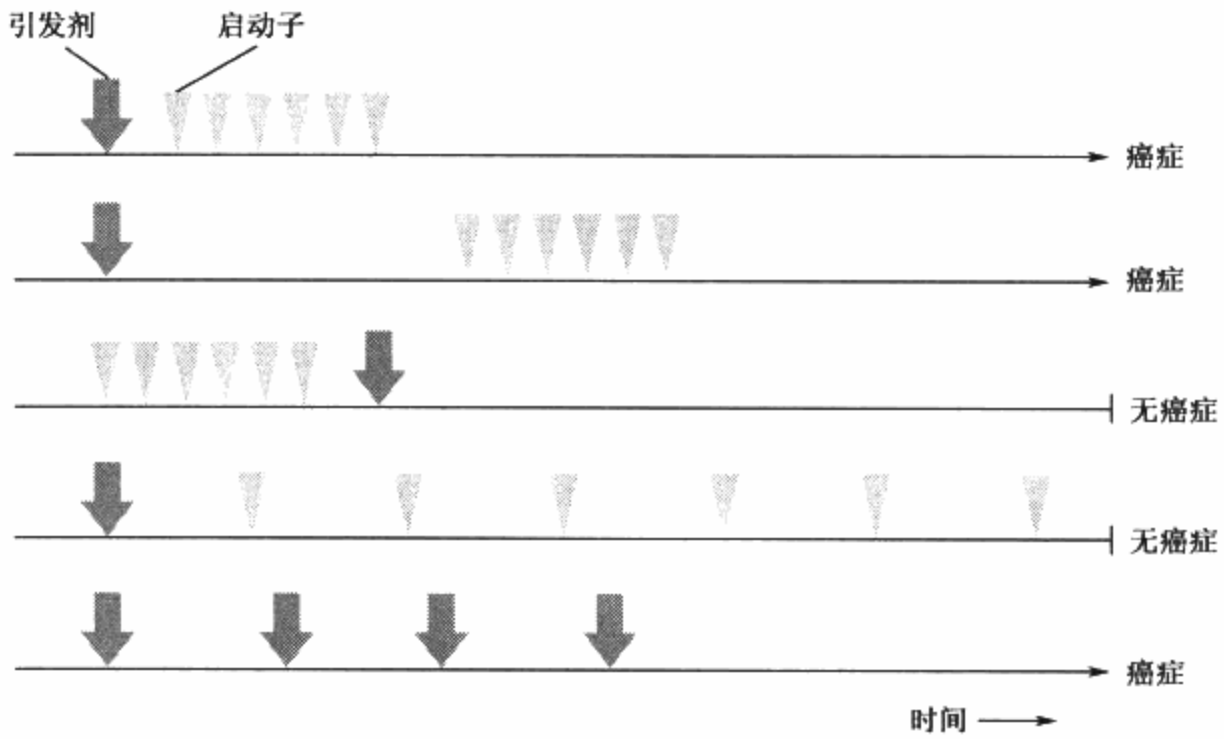


图 23-19　暴露于肿瘤诱发剂（诱变剂）和肿瘤促进剂（非诱变剂）的一些可能方案及其后果

如果先暴露于诱发剂然后又暴露于促进剂，并且暴露于促进剂的强度超过某一域值，那么癌症就会跟着发生。癌症也可在反复暴露于仅有诱发剂的条件下发生

图 23-20　肿瘤促进剂的效应

肿瘤促进剂使突变细胞群体扩张，从而通过进一步遗传改变增加进行性肿瘤的可能性

可是，它确实会引起潜在的遗传损伤——当细胞暴露于使用相同物质的进一步治疗或者另外一些很不相同的损伤时会大大增加癌症发病率的突变。通过这种方式诱发癌症的致癌剂据说担当了**肿瘤诱发剂**（**tumor initiator**）的角色。

研究最多的肿瘤促进剂是佛波酯（phorbol ester），如十四烷酰佛波醋酸酯（TPA），起蛋白激酶 C 的人工激活剂作用，因此部分激活磷脂酰肌醇胞内信号转导途径（讨论见第 15 章）。只有用诱变引发剂治疗后，这些物质的应用才会高频率地引发癌症（图 23-19）。

当一个人有望发生遗传损伤时，由肿瘤诱发剂引起的隐秘改变是不可逆的：因而，甚至长时间延误之后，它们还可能因为用肿瘤促进剂治疗而暴露。显然，促进剂的瞬时效应是促进细胞分裂（或者使正常情况下进入终末分化的细胞持续进行分裂）。在以前曾暴露于诱发剂的区域，这种增殖导致称之为乳头状瘤（papilloma）的许多小的疣状良性肿瘤的生长。诱发剂先前使用的剂量越大，诱发的乳头状瘤的数目也就越大。人们认为，每个乳头状瘤（至少对低剂量）都包括由诱发剂产生的一个突变细胞而形成的单个克隆。肿瘤促进剂怎样起作用还不确定，不同的肿瘤促进剂可能以不同的方式起作用。一种可能是，它们只是诱导控制生长的基因的表达，并且这些基因在应用促进剂之前已经被突变：使一个基因产物的功能亢进的突变只有在该基因表达之后才会表现出其效应。另一种可能是，促进剂暂时将细胞从抑制影响中释放出来，这种抑制效应通常会妨碍突变的诱导增殖效应，结果，使细胞能够分裂并长成一大

群细胞（图 23-20）。

一个典型的乳头状瘤可能含有约 10^5 个细胞。如果终止暴露于肿瘤促进剂，那么，几乎所有的乳头状瘤都会退化，皮肤在很大程度上会恢复正常外观。然而，在少数几种乳头状瘤中，会发生进一步改变，甚至在促进剂去掉之后，其生长仍以一种失控的方式继续进行。这些改变起源于一个以自然突变频率偶见的乳头状瘤细胞。一小部分乳头状瘤通过这种方式发展成为癌瘤。因此，显然肿瘤促进剂有利于癌瘤的发育是通过扩大携带有原始突变的细胞群体来实现的：这种细胞越多，则分裂的次数也就越多，至少其中之一发生另一次突变的可能性也就越大，向恶性肿瘤又跨进了一步。

尽管自然发生的癌瘤并不一定是通过特殊的引发顺序以及刚才描述的促进步骤而产生，但其演化受相同的原理支配。而且，它们将会以依赖于突变频率和依赖于影响所选突变细胞的生存、增殖和扩散的速率而演化。

病毒和其他感染促成一部分重要的人类癌症

就我们所知，病毒和其他感染在大部分人类癌症中都不起作用。然而，一小部分重要的人类癌症，也许占全世界的 15%，被确认为是由与病毒、细菌或寄生虫有关的机制引起。如表 23-2 所示，主要的罪魁祸首是 DNA 病毒。它们与此有关的证据部分来自癌症患者的病毒检测情况，部分来自流行病学调查。例如，在乙肝病毒感染有共同点的世界部分地区（非洲和东南亚），其肝癌也有共同点，在那些地区，癌症几乎只在那些有慢性乙肝感染体征的人群中发生。

癌症相关病毒的确切作用常常难以阐明，因为从最初病毒感染到发展成癌症会延迟数年之久。而且，在癌症进展过程的一系列步骤中，病毒仅对其中一个步骤起重要作用，且还与其他环境因素和遗传事件有关。像我们之前讨论过的致癌化学药品一样，病毒或者可以直接改变细胞的 DNA，或者起到肿瘤促进剂的作用。正如我们将会在后面解释的一样，DNA 病毒常常携带有能破坏宿主细胞的细胞分裂控制的基因，使其增殖失控。通过这种方式起作用的 DNA 病毒包括人乳头状瘤病毒（图 23-21）。其中一些病毒引发疣突，其他病毒则感染子宫颈，与宫颈癌的发生有关。

表 23-2　与人类癌症有关的病毒

病毒	相关肿瘤	高发病率地区
DNA 病毒		
乳多空病毒家族		
乳多空病毒	疣（良性）	全世界
（许多不同株系）	宫颈癌	全世界
肝 DNA 病毒家族		
乙型肝炎病毒	肝癌（肝细胞癌）	东南亚、热带非洲
疱疹病毒家族		
EB 病毒	伯基特淋巴瘤（B 淋巴细胞的癌症） 鼻咽癌	西非、新几内亚岛、中国南部、格陵兰
RNA 病毒		
反转录病毒家族		
人 T 细胞白血病病毒 I 型（HTLV-1）	成人 T 细胞性白血病/淋巴瘤	日本、西印度群岛
人类免疫缺陷病毒（HIV，艾滋病毒）	卡波济（氏）肉瘤	中非和南非

注：对上述所有病毒，被感染人数要比发展成癌症的人数大得多；病毒必须与其他因素相结合才起作用。而且，一些病毒仅是间接地促成癌症，如 HIV，通过扰乱正常细胞介导的免疫防御，允许内皮细胞被另一种病毒（一种疱疹病毒）转化并茁壮成长形成肿瘤，而不是被免疫系统消灭。

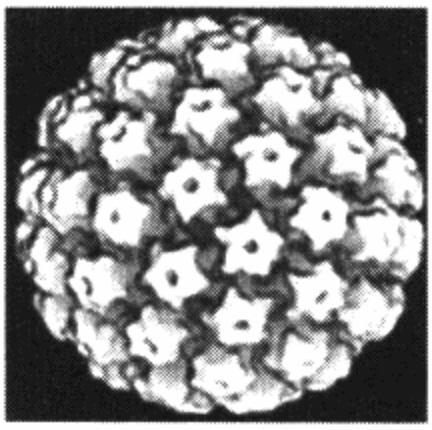


图 23-21　人乳头状瘤病毒

（经 Norman Olson 许可）

在其他一些癌症中，病毒似乎有额外的间接促进肿瘤形成的作用。例如，乙肝病毒有利于肝癌发生是通过引起刺激肝细胞分裂的损伤以及直接改变对细胞生长的控制。在艾滋病中，人类免疫缺陷病毒（HIV）促进一种称之为卡波西肉瘤的罕见癌症的发生是通过破坏免疫系统，因而允许继发性感染具有直接致癌作用的人类疱疹病毒 8 型（HHV-8）。慢性感染寄生虫和细菌也可能促进一些癌症的发生。例如，胃感染能引发溃疡的幽门螺旋杆菌似乎是胃癌发生的主要原因。在世界一些地区的膀胱癌与感染一种寄生扁虫——曼氏血吸虫有关。

鉴别致癌物展现出避免癌症的途径

烟草烟雾是当今世界最重要的环境致癌因素。其他相对重要的化学致癌因素仍有待鉴别。有时，人们认为，主要的环境致癌因素是高度工业化生活方式的产物（污染的增加，食品添加剂的过量使用等）但是支持这种观点的证据很少。这种观点可能部分来自对一些工业用高度致癌物质的鉴别，如 2-萘胺和石棉。实际上，除胃癌的显著减少和由吸烟引起的癌症增加之外，特定年龄个体最常见癌症的发生率在 20 世纪并没有很大变化（图 23-22）。

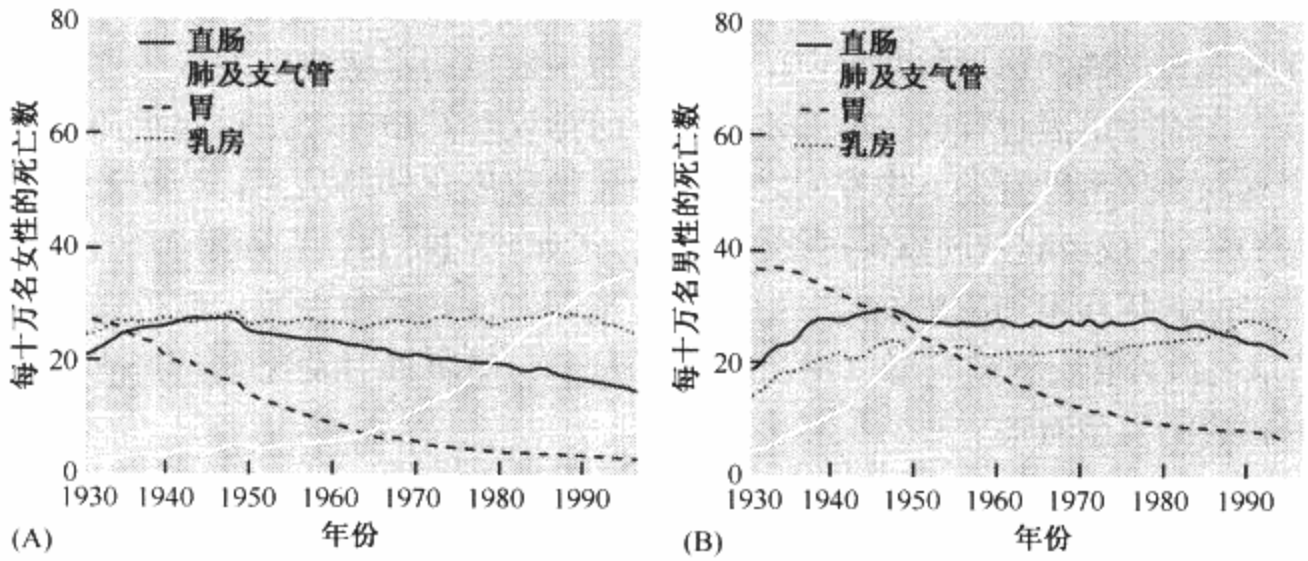


图 23-22　1930～1996 年美国的年龄校正癌症死亡率

所选死亡率根据 1970 年美国人口的年龄分布进行校正，（A）为女性，（B）为男性。注意男女两性中肺癌的急剧上升（遵循烟草烟雾模式），胃癌死亡病例的下降（可能与饮食变化或感染缠绕杆菌模式的变化有关）。最近其他癌症死亡率的下降可能与检测和治疗水平的提高相符（改编自 Cancer Facts and Figures 2000. © American Cancer Society, 2000）

已知的大部分重要致癌因子绝不是现代世界特有的。黄曲霉毒素 B1 是已知最有效的致癌剂（通过某些实验测定），也是非洲和亚洲一种重要的引发肝癌的因素（图 23-18），这是由自然情况下污染食物（如热带花生）的真菌产生的一种化合物。对于妇女，患癌症的危险受到在不同生活阶段体内循环的生殖激素的强烈影响。因此，在生育史和乳腺癌发生率之间存在显著的相关性（图 23-23）。生殖激素可能通过影响乳腺的细胞增殖来影响乳腺癌的发生率。显然，在尝试辨别环境致癌因素时，我们必须思想开明。

流行病学（分析群体发病频率的一门学问）仍然是发现人类癌症的环境因素的主要工具。这种方法已经获得了一些值得注意的成功实例，并且还有希望获得更大的成功。仅仅是通过

揭示吸烟的作用，流行病学就指出了一条将北美和欧洲的癌症总死亡率降低 30%的途径。当应用于相当均一、易于将暴露和没有暴露的个体区分开的群体时，当待研究的制剂对某类癌症的大部分病例都有重要作用时，此方法才能发挥其最佳作用。例如，在 20 世纪初期的一家英国工厂，所有被雇佣来蒸馏 2-萘胺的人（因而长期暴露在这种环境中）最后都患有膀胱癌（图 23-8）。相对地，这种联系是容易建立的，因为这种化学药品和这种癌症形式在一般人群中是不常见的。

相反，仅采用流行病学方法来鉴别有利于常见癌症发生的日常环境因子就非常困难：大部分这些因子很可能在某种程度上是我们都能接触到的，其中许多因子很可能共同促成某一特定癌症的发生。如果说吃橘子使患结肠直肠癌的危险性提高了 1 倍，那我们就不太可能弄清楚，除非我们事先有某种理由怀疑存在这种联系；包括我们吃的、喝的、吸的、穿的其他无数种东西也是如此。甚至当通过流行病学或实验室检验获得的证据表明某种物质是致癌物时，仍然可能难以决定人们处于什么样的暴露水平是可以接受的。估计一定量的某种物质可引发多少例癌症是困难的，然而，平衡该物质的有用性和危险性是更困难的。例如，动物实验表明，某种农业杀真菌剂高剂量使用时似乎有轻度致癌性，但计算表明，如果在农业中不使用这种杀真菌剂，那么由真菌代谢如黄曲霉素 B1 引起的食物污染将会比食品中残留的杀真菌剂引发癌症病例多得多。

然而，鉴别潜在致癌物的努力仍在我们同癌症的斗争中处于中心地位。预防疾病不仅仅是比治疗更好，以我们目前的了解程度，对多种癌症来说，这似乎要容易得多。

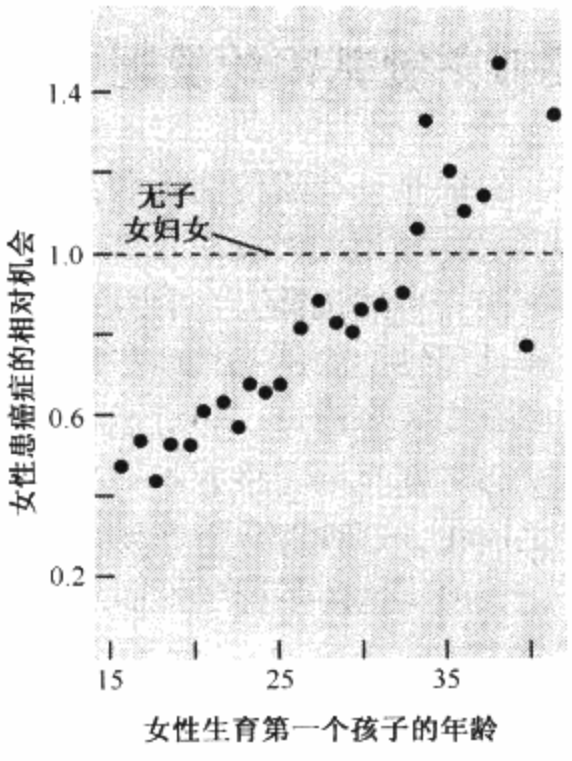


图 23-23　分娩对乳腺癌风险的影响

妇女一生中某个时候患乳腺癌的相对可能性是她生育第一个孩子时的年龄的函数。该图显示相对于无子女妇女的概率值。暴露于生殖激素直至生育第一个孩子的时期越长，危险性就越大。一般认为，第一次足月妊娠可能导致乳腺细胞分化状态的永久改变，改变她们以后对激素的反应。流行病学证据的其他几条线也支持这样一种观点：暴露于生殖激素（尤其是雌激素）某种组合能促进乳腺癌的发生（摘自 J. Cairns, Cancer: Science and Society. San Francisco: W. H. Freeman, 1978. After B. MacMahon, P. Cole, and J. Brown, *J. Natl. Cancer Inst.* 50: 21～42, 1973）

小结

诱变剂（肿瘤诱发剂）和影响基因表达、刺激细胞增殖以及改变突变和非突变细胞生态平衡的非诱变剂（肿瘤促进剂）都会加快肿瘤演化的速率。大部分已知的致癌剂都是诱变剂，包括化学致癌剂、某些病毒和各种不同形式的辐射，如紫外线和电离辐射。因为许多因子都有助于特定癌症的发生（其中一些在我们的控制之下）。所以，原则上大部分癌症都是可以预防的。

我们在很大程度上忽视了影响癌症发生率的主要环境因子。然而，在已鉴别的环境危险因子中，许多都是可以避免的。这些因子包括吸烟和感染致癌病毒，如乳头瘤病毒或乙肝。流行病学可能是鉴别人类癌症的这些诱因和揭示预防这种疾病的方法的一种有力工具。该方法不需要知道致癌剂如何起作用，而且它还能揭示不仅仅是诱变剂的因素，如病毒和某些分娩方式。

癌症关键基因的发现

癌症是一种遗传性疾病：它由体细胞中的突变引起。为了在分子水平上弄清楚癌症，我们需要鉴别相关突变，并揭示它们怎样引起癌性细胞行为。一方面，发现突变是容易的：突变细胞在自然选择上是有利的，并通过引发肿瘤而唤起注意。接着，最困难的工作开始了：怎样从癌细胞的所有其他基因中鉴别携带有致癌突变的基因？寻找一个决定特定突变表型的基因有如大海捞针，但对于癌症，这项任务尤其复杂。典型的癌症依赖于一整套突变（通常，每个患者都有一套略有不同的突变）将这些基因的任何单独一个导入正常细胞通常都不足以使之癌化。这种遗传协作使得难以测试可疑突变的重要性。更糟糕的是，大多数癌细胞会含有一些由于遗传不稳定性而导致意外突变，而要将这些突变与作为疾病成因的突变区分开可能是困难的。

尽管有这些困难，但在人类癌症中反复突变的许多基因还是被鉴别出来（共有 100 多个）显然，仍有许多基因有待发现。因为缺乏更好的词，所以我们将称这些基因为**癌症关键基因**（**cancer-critical gene**），意思是其突变有助于引发癌症的所有基因。我们对这些基因的理解是通过许多不同的、有时还是迂回的方法逐渐积累起来的，包括从胚胎发育到鸡致癌感染的研究。对罕见而很有启迪作用的疾病模式的分析也起了很重要的作用。

在本节，我们讨论用于鉴别癌症关键基因的方法以及癌症形成过程中发生在这些基因中的各种类型的突变。

鉴别功能获得型突变和功能缺失型突变的各种方法

按照癌症危险性是否是由于基因产物过多或过少的活动引起，可将癌症关键基因分为两大类。第一类基因称为**原癌基因**（**proto-oncogene**），对于这类基因，功能获得型突变促使细胞形成癌瘤，其活动过度的突变形式称为**癌基因**（**oncogene**）。第二类基因称为**肿瘤抑制基因**（**tumor suppressor gene**），对于这类基因，功能丧失的突变产生这种危险性。

我们将会看到，这两类突变在增强细胞的增殖能力和存活方面可能有类似的效应。因此，根据癌细胞观点，癌基因和肿瘤抑制基因（以及影响它们的突变）是同一个事物的不同侧面。然而，找到这些基因所必需的技术是不同的，这由它们在癌症中是活动过强还是不足来决定。

单拷贝原癌基因的突变对细胞可能表现出明显的促长效应［图 23-24（A）］。因此，当癌基因通过 DNA 转染或感染病毒载体而进入合适类型测试细胞的基因组时，可根据其效应检测到。另一方面，至于肿瘤抑制基因，致癌突变通常都是隐性的：在二倍体体细胞中，必须将正常基因的两个拷贝同时去掉或失活才能观察到其效应［图 23-24（B）］。这需要用不同的方法才能发现失去了什么。

在某些情况下，一种特殊的、显微镜下可见的大片段染色体异常一再与一种特殊类型的癌症相关联。这可给由于染色体重排而被激活的癌基因（如前面提到的，导致慢性髓细胞性白血病的染色体易位的例子）或被删除的肿瘤抑制基因的定位提供一条线索；但另一方面，与这两种情况有关的染色体异常的类型以及它们通常遇到的环境是不同的。

癌基因通过其显性转化效应而被鉴定

按照惯例，遗传学家通过研究表现某种遗传性状的个体的家族的遗传类型来鉴定基因。为了在基因组中定位决定这一性状的突变，他就要寻找该性状与染色体位置已知的遗传标记

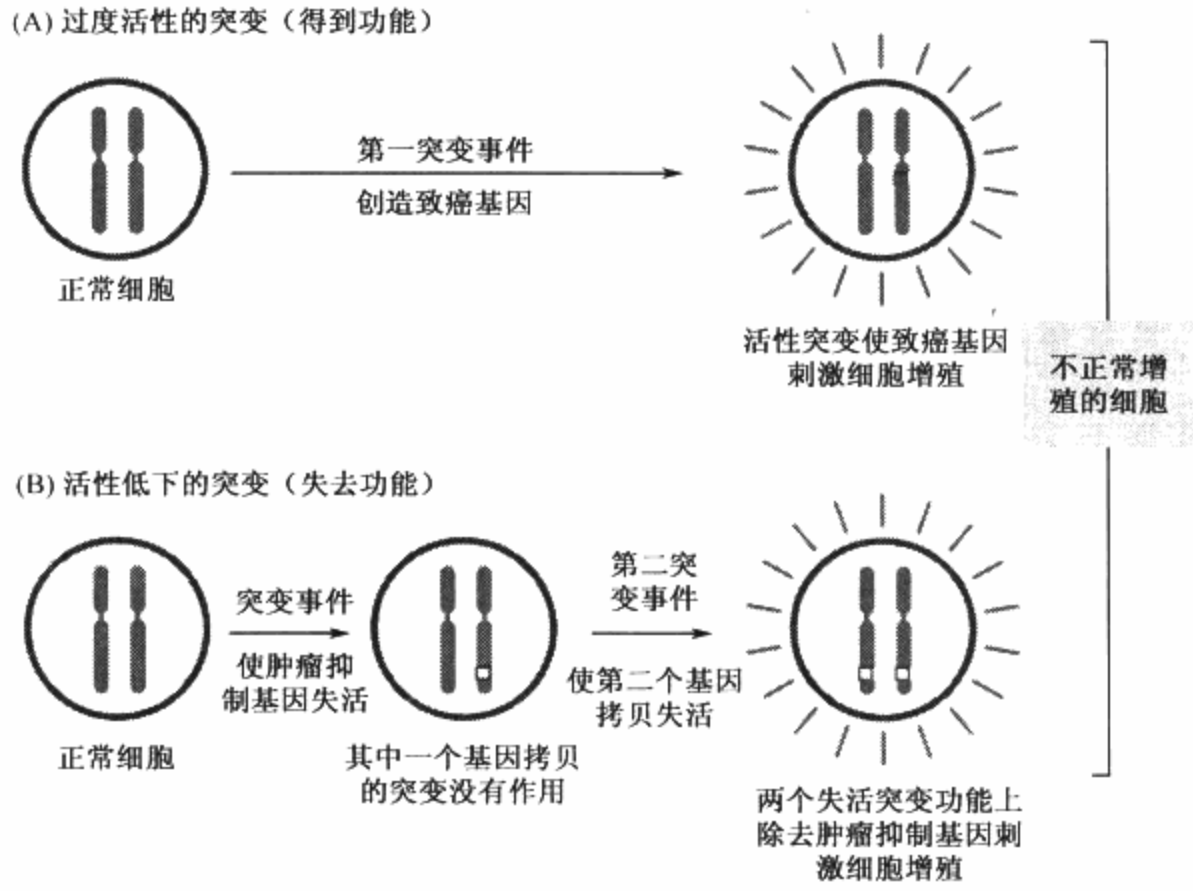


图 23-24　癌症关键基因分为易于分辨的两大类：显性基因和隐性基因

癌基因以显性方式起作用：癌症关键基因单一拷贝的功能获得型突变能促使一个细胞发展成癌瘤。另一方面，肿瘤抑制基因通常以隐性方式起作用：癌症关键基因两个等位基因的功能都必须丧失才能促使一个细胞发展成癌瘤。在此简图中，激活突变用实心红色方块表示，失活突变用空心红色方块表示

之间的遗传连锁关系。这种方法利用有性生殖的作用：彼此靠近的基因易于一起遗传，而相距较远的基因在减数分裂时常常通过重组而分离。这样，一个致病突变就可通过测定与其他遗传标记的距离而被定位（讨论见第 8 章）。

癌细胞不进行有性生殖，所以遗传学家必须用其他方法追查导致体内癌细胞与其正常邻近细胞不同的突变。对癌基因，一个直接且概念上简单（但费力）的方法是扫描癌细胞基因组，以获得 DNA 片段（当导入合适测试细胞系的细胞时，会迫使它们表现出癌的行为特性）。鼠源成纤维细胞系是这种方法的一个便利的测试细胞源；这些细胞以前被筛选用于培养，一般认为已经含有使之具有部分恶性肿瘤性质的遗传改变。由于这个原因，仅导入一个癌基因就足以产生巨大的效应。

为了用这种方法探测癌基因，人们从肿瘤细胞中提取 DNA，打断成碎片，并将这些碎片导入培养基中的成纤维细胞。如果某个片段含有一个癌基因，就可能会出现一些异常增殖细胞即所谓的“转化”细胞的小集落。每个集落都由一个细胞克隆组成，这个细胞克隆来源于单个细胞，其生长因外加基因而加快。因为它们是从细胞分裂的社会控制下生长起来的，所以转化细胞比正常细胞生长得快，并随着它们的增殖而在培养皿中一层一层地堆积起来（图 23-25）。

这种方法应用于人类肿瘤的 DNA，导致第一次直接鉴定人类癌症中一个癌基因的突变。通过对转入到这些转化细胞中的 DNA 片段的分离和测序，鉴定了几个活动过度的促生长基因。在被测序的这些基因中，第一个基因是 **Ras 基因**的突变体，现在认为约 1/4 的人类肿瘤中该基因发生突变。

这一发现更加引人注目，因为在此之前不久，人们发现突变 Ras 基因是**反转录病毒**中的

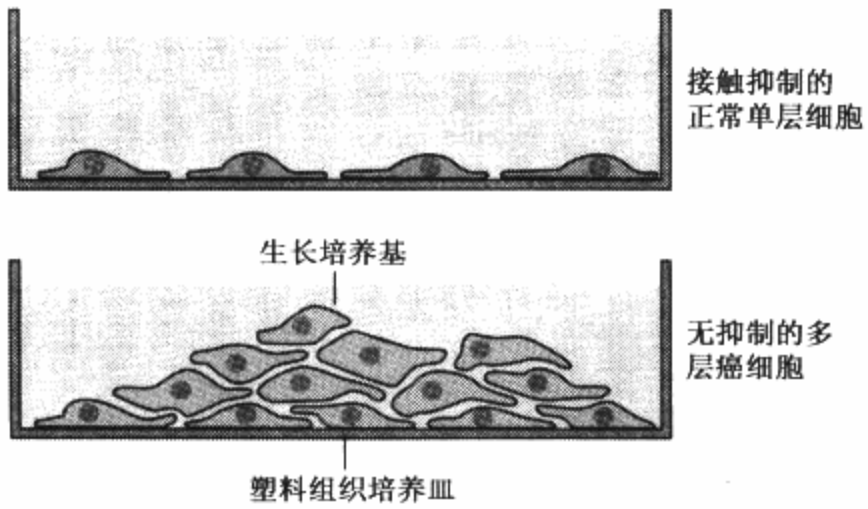


图 23-25　细胞培养中接触抑制的丧失

大多数正常细胞一旦在培养皿上铺满单层就停止增殖：增殖似乎依赖于与培养皿的接触，与其他细胞接触后，增殖就受到抑制。相反，癌细胞通常没有这些限制，因而继续生长，结果它们彼此堆积在一起

肿瘤引发基因，这种病毒在啮齿类中引发肉瘤。现在，我们知道，反转录病毒能从它的动物宿主中随机吸收遗传物质片段，并将这些片段从一个感染个体运送到另一个体。偶尔，原癌基因会以一种受损或错误控制的方式被吸收而变成癌基因。感染携带有这种基因的病毒在某些动物物种中可引发癌症，许多癌基因都是通过这种方法被首先发现的。

20 年前，在人肿瘤细胞和引发肿瘤的动物病毒中发现相同的突变基因是令人震惊的。癌症是由有限的几个癌症关键基因的突变引起的观点表明，阐明癌症的确切性质似乎是一个可以解决的科学问题。它有助于转变我们对癌症分子生物学的理解。

正如我们在第 15 章中看到的一样，正常 Ras 蛋白是 GTPase 单体，协助细胞表面的生长因子受体传递信号。从人肿瘤分离的 Ras 基因中发现一些点突变，它们产生一种功能亢进的 Ras 蛋白，保持异常活性状态——传递不当的细胞增殖信号。因为这种类型的突变是基因产物处于功能亢进状态，所以具有显性效应——仅需要细胞两个基因拷贝是中的一个就会发生性状改变。多种人类癌症的 Ras 基因都发生突变，它们依旧是癌症关键基因最重要的实例之一。

肿瘤抑制基因有时可通过研究罕见的癌遗传综合征来鉴定

对于给定的癌细胞，鉴定一个失活的基因和发现一个功能亢进的基因所需要的策略是不同的。例如，我们不可能用细胞转化法去鉴定一个并不存在的基因。因此，寻找肿瘤抑制基因和癌基因所采取的路线是完全不同的。导致第一个肿瘤抑制基因发现的关键来自对罕见人类癌症（**视网膜母细胞瘤**）的研究，此病的产生是由于极少的几个突变将体内细胞转变成癌化状态。正如在生物中经常发生的情况一样，这一发现起因于一个特殊病例的检查，但却具有普遍的相关性。

视网膜母细胞瘤在童年期出现，肿瘤是从未成熟视网膜的神经前体细胞发展而来。在 2 万名儿童中约有一名儿童受累。这种疾病有两种类型，一种是遗传性的，另一种是非遗传性的。在遗传性类型中，多个肿瘤通常独立发生，影响双眼；在非遗传性类型中，仅影响单眼，并且仅出现单个肿瘤。一些患有遗传性视网膜母细胞瘤的个体的核型有可见异常，在第 13 号染色体上缺失一条特异带。在患有非遗传性视网膜母细胞瘤的患者的肿瘤细胞中也缺失这一位点，暗示这种癌症可能是由位于该染色体区域的一个关键基因的丢失所引起的。

运用与视网膜母细胞瘤相关的已知染色体缺失位点，就可能克隆和测序 *Rb* 基因，该基因的丢失似乎对癌症的形成起至关重要的作用。正如所预见的那样，那些患有遗传性视网膜

母细胞瘤的个体的体内，每一个细胞中的 *Rb* 基因都有一个拷贝发生缺失或功能丢失。因此，这些细胞易于转变成癌性细胞，不过，只要能保留该基因的一个优良拷贝，这些细胞实际上并不会癌化。注定会癌化的视网膜细胞其两个 *Rb* 基因拷贝都有缺陷，这是因为除了最初遗传的突变之外，还发生体细胞突变，因而敲除了剩下的那个优良基因。与此相反，在患有非遗传性视网膜母细胞瘤的患者中，非癌性细胞其 *Rb* 基因的任意一个拷贝都没有缺陷，然而癌性细胞其两个拷贝都有缺陷。这些非遗传性视网膜母细胞瘤是非常罕见的，因为它们需要在单个视网膜细胞谱系中同时发生两个体细胞突变，以破坏 *Rb* 基因的两个拷贝（图 23-26）。

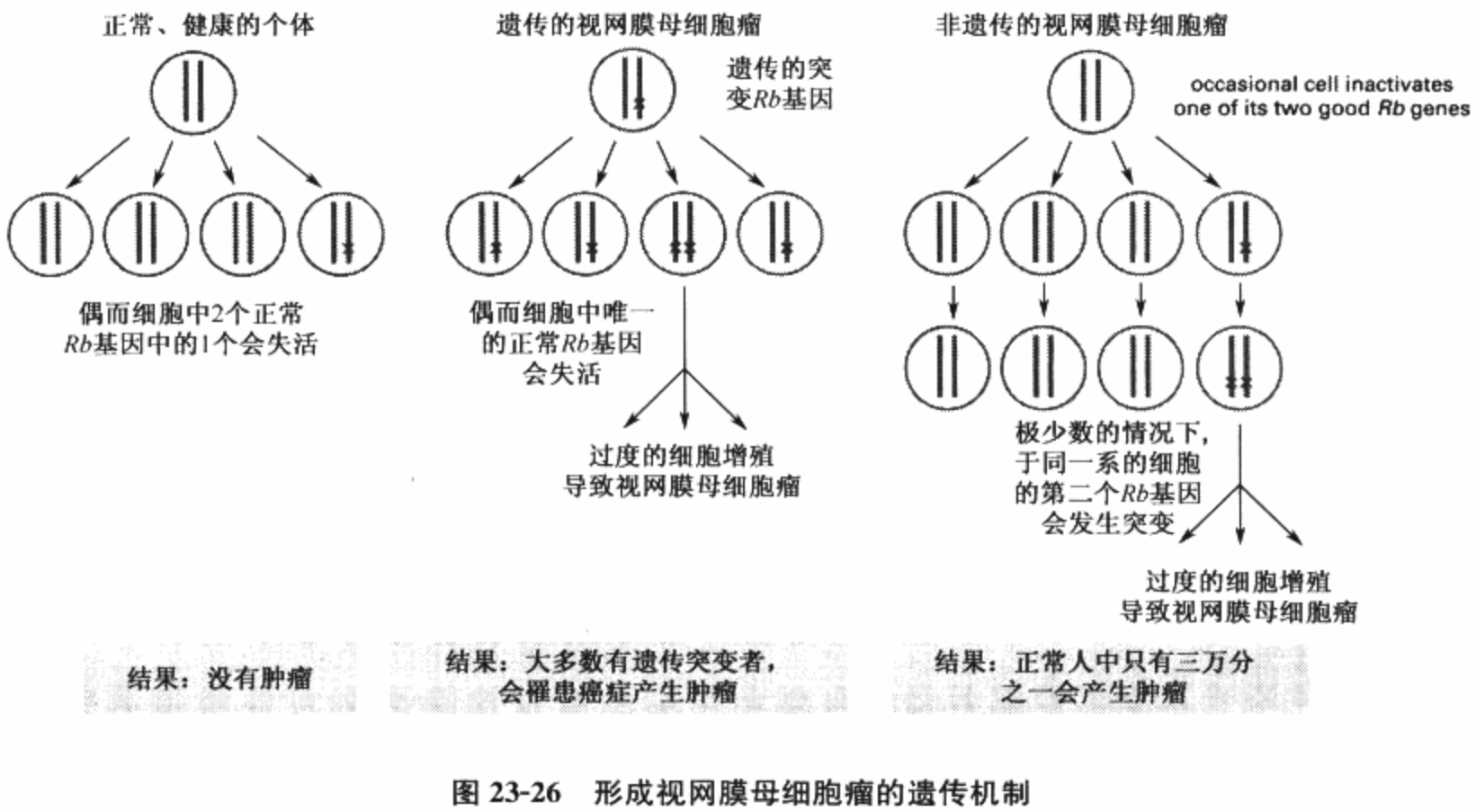


图 23-26　形成视网膜母细胞瘤的遗传机制

在遗传性类型中，体内所有细胞都缺少 *Rb* 肿瘤抑制基因两个正常功能性拷贝之一，肿瘤发生于余下的拷贝被丢失或由于体细胞突变而失活的部位。在非遗传性类型中，所有细胞开始时都含有该基因的两个功能性拷贝，肿瘤的发生是因为在一个细胞谱系中，两个拷贝都被丢失或通过两个体细胞突变病的同时发生而失活

后来证明，*Rb* 基因远远不只是一个在罕见的儿童期肿瘤中发生突变的基因：在几种常见类型的肿瘤中也有缺失，包括肺癌、乳腺癌和膀胱癌。这些更常见的癌症通过一系列比视网膜母细胞瘤更复杂的遗传改变而发生，它们在一生的较后阶段及身体的其他组织出现。但是，似乎在所有这些癌症中，*Rb* 基因的丢失在恶性肿瘤的发展过程中常常是一个主要步骤。*Rb* 基因编码 Rb 蛋白，这是一个细胞周期通用调节蛋白，通常在体内几乎所有细胞中都有表达（图 17-30）。因为 Rb 蛋白是细胞分裂周期进程中的主要限制因素之一，它的丢失可能允许细胞不适当地进入细胞分裂周期，关于这一点，我们将在癌细胞行为的分子基础一节中予以讨论。

即使没有从癌遗传综合征获得线索也能鉴定肿瘤抑制基因

正如我们已经强调的一样，癌遗传综合征，如视网膜母细胞瘤，是非常罕见的，仅有少数几个肿瘤抑制基因（尽管重要）是通过研究它们而发现的。如果没有遗传性综合征这类线索而仅仅是根据肿瘤细胞中的缺失来鉴定肿瘤抑制基因，那么摆在我们面前的将是一项繁重的任务。这涉及比较同一患者体内的肿瘤细胞和非肿瘤细胞，从人类基因组的 30 亿个核苷酸中发现缺失或功能丢失的基因。因为癌细胞的遗传不稳定性，通常会有大量的丢失。大部分

缺陷是遗传不稳定性随机和偶然的副产品。肿瘤抑制基因只有根据它们在许多独立癌症病例中反复丢失或缺陷才能加以鉴定。

基因丢失常常通过染色体相对大片段的缺失而发生。其结果是，例如，癌细胞中肿瘤抑制基因的一个拷贝可能发生一个失活点突变，而大片段的缺失会剔除随同一些临近基因的其他拷贝（两条染色体上一大簇基因的缺失很可能会导致细胞的死亡）。一个染色体上的大片段缺失使得探测丢失要容易得多。

有一个探测缺失的策略利用造成母本和父本染色体组明显不同的正常人类遗传变异。平均起来，人类 DNA 序列每 1000 个核苷酸中约有一个是不同的，即我们都是杂合子。大片段染色体的丢失导致杂合性的丢失：邻近区域的每个不同 DNA 序列仅有一个拷贝。人类基因组中许多常见的杂合性位点（超过 100 万）都作为人类基因组计划的一部分而规划进去：其中每个位点都有一段多态性的特异 DNA 序列，即常常在两个或有些微差异的不同人群中出现。对于给定的肿瘤 DNA 样本，人们能查出这些多态性序列是哪种类型。同样，取自同一患者的非癌性组织的 DNA 样本也可以作为对照来做这种检查。含有许多多态性位点的某个基因组区域杂合性的消失，或者在非癌性的对照 DNA 序列中见到的遗传标记序列的丢失，指出了缺失所在的染色体区域。

大规模 DNA 分析技术以及缺失与其他突变的探测技术正在迅速进展，人们期望用这些技术发现更多的肿瘤抑制基因。

癌瘤中的突变基因可通过多种途径而激活过度或不足

我们现在知道至少有 100 个可通过激活突变而转变成癌基因的癌症关键基因。因缺失或失活而导致癌症的基因，即肿瘤抑制基因的数目较小，但正在增加。每种类型的基因因突变而致使活性增加或降低的方式存在巨大差异：正如我们所预期的，任何能增加、降低或改变基因活性的遗传偶发事件很可能在日益复杂的、导致癌症发生的基因改变一览表中找到。

如图 23-27 总结，能使癌症关键基因变成癌基因的遗传改变类型分为三个基本类型。基因的改变可以是序列的微小变化（如点突变）、较大片段的改变（如部分缺失）或染色体易位（涉及 DNA 螺旋的断裂和再接合）。这些改变可能发生于蛋白质编码区，产生活性过强的产物，或者发生于邻近的调控区域，结果基因表达产物的浓度比正常的高得多。另一方面，癌症关键基因可能过度表达，因为由 DNA 复制错误而引起的基因扩增事件导致额外拷贝的出现（图 23-28）。

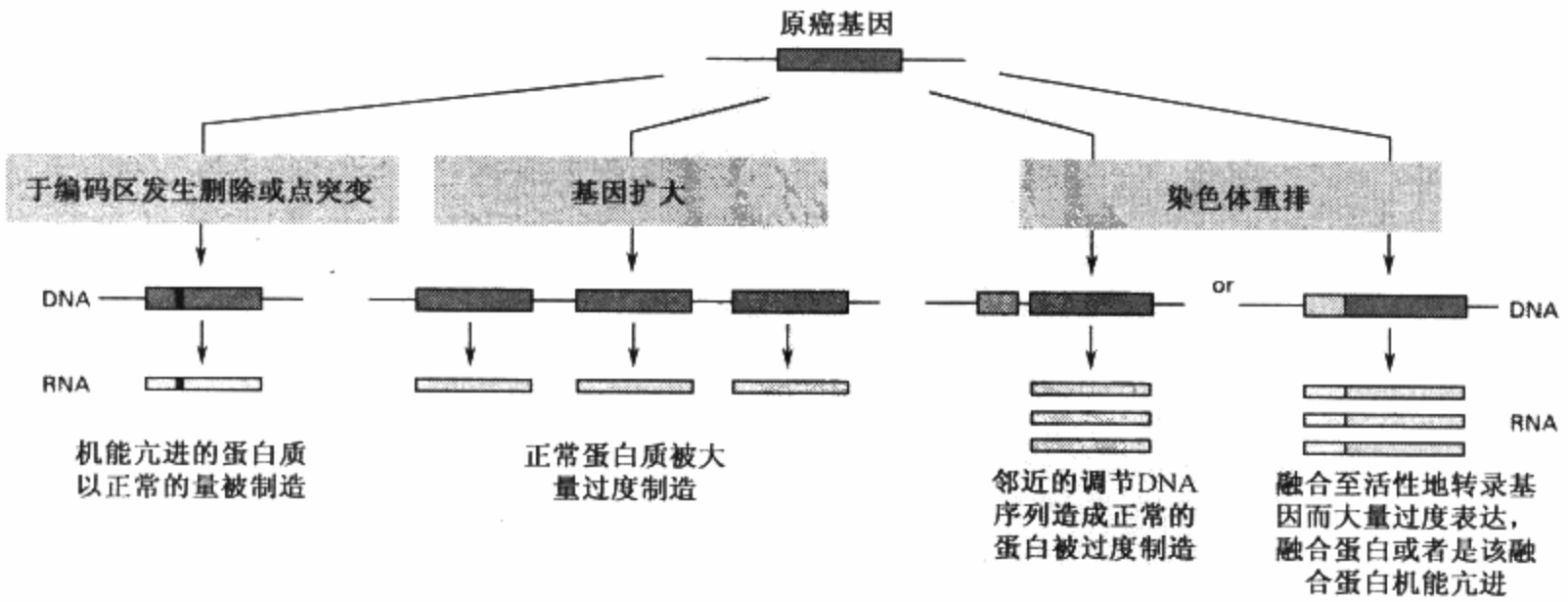


图 23-27　原癌基因被过度活化而转变成癌基因的三种途径

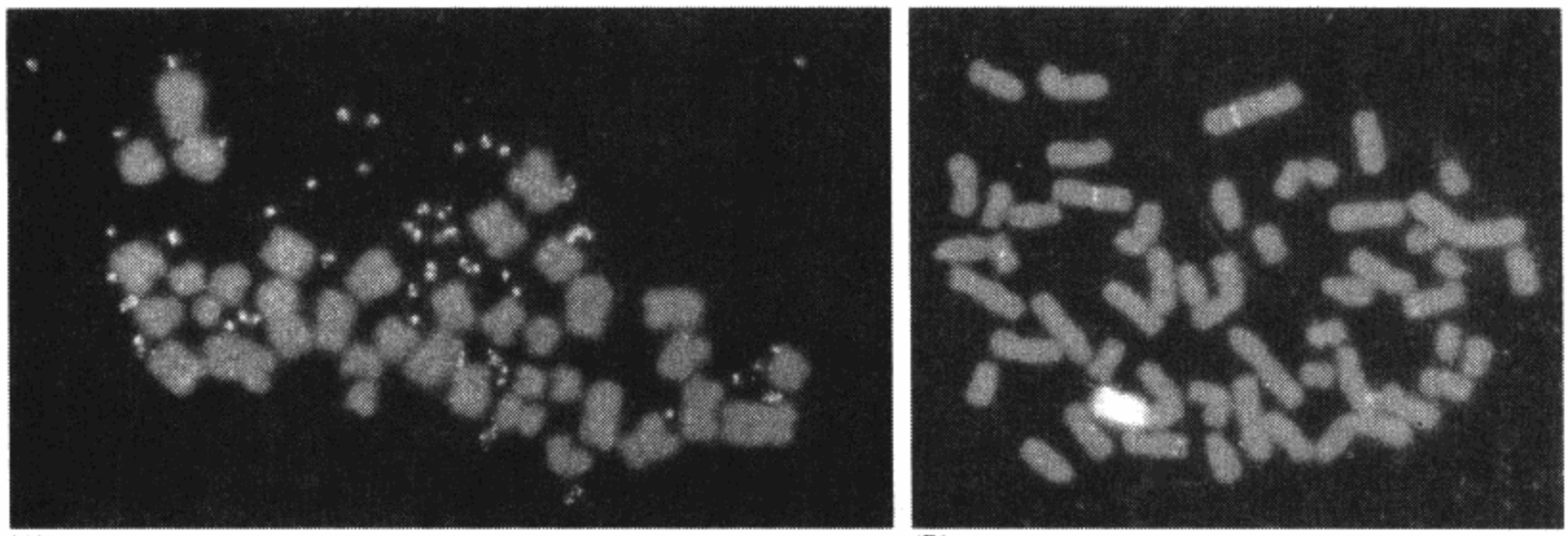


图 23-28　癌细胞中反映基因突变的染色体改变

在这些例子中，*myc* 原癌基因拷贝数被扩增。癌基因扩增在癌中常见，并且常常可以见到其核型的奇怪变化：可见到细胞含有数对额外的微型染色体，即所谓的双微染色体（double minute chromosomes）或者有一个内插在一条常染色体的正常带型内的同源染色区（homogeneously staining region）。这些畸变由拷贝数大量扩增的基因组小片段。染色体用红色荧光染料着色，而 *Myc* 基因的多个拷贝则用黄色荧光探针通过原位杂交检测。（A）*Myc* 基因拷贝是以双微染色体形式出现的一个细胞的核型。（B）多个 *Myc* 基因拷贝以同源染色区（黄色）的形式插入一条常染色体的一个细胞的核型（普通的单拷贝 *Myc* 基因在基因组其他位置以微小黄点的形式被检测到）（经 Denise Sheer 许可）

特殊的异常类型的特征是有特殊的基因和对特殊致癌物的反应。例如，90%由肿瘤诱发剂二甲基苯并蒽（DMBA）在小鼠中诱发的皮肤肿瘤在 *Ras* 突变基因的相同位点都有 A-T 转变；在由 DMBA 引起的突变中，可能只有那些在这一位点发生的突变才能有效地激活皮肤细胞形成肿瘤。

另一方面，表皮生长因子（EGF）受体可通过缺失部分胞外结构域而被激活。受体的这些突变体甚至在没有 EGF 的情况下也能形成活性二聚体，因而不适当地产生刺激信号，就像一个坏门铃，甚至在没人按按钮的情况下也响铃。这些突变在称为成胶质细胞瘤的许多人脑肿瘤中发现。

另一方面，*Myc* 原癌基因家族的成员通常不会因为蛋白质编码区的突变而被激活；相反，这些基因被过度表达或扩增（图 23-28）。如第 17 章所讨论的，正常细胞的 Myc 蛋白在细胞核中起细胞增殖信号作用；过量 Myc 能使细胞在一个正常细胞停止生长的环境中进行增殖。虽然 *Myc* 在癌瘤中频繁扩增，但是它也能通过染色体易位而被激活。这种重排的结果是，强有力的基因调控序列被不适当地置于 Myc 蛋白编码序列附近，产生异常大量的 *Myc* mRNA。以伯基特淋巴瘤为例，易位使 *Myc* 基因受到正常情况下驱动 B 细胞抗体表达的序列的调控。结果，突变 B 细胞过量增殖，形成肿瘤。类似的特殊染色体易位常见于淋巴瘤和非白血性白血病中。

肿瘤抑制基因也可通过许多不同途径被激活，各种不同遗传灾祸的组合共同敲除或破坏两个基因拷贝。例如，第一个拷贝可能通过染色体小缺失而丢失，或者通过点突变而失活。甚至后生变化也能使肿瘤抑制基因失活。例如，它的启动子可能被甲基化或者基因被包装成异染色质，因而有效地阻止基因表达。第二个拷贝可能以同样的方式而失活，但更常见的是，它通过一种较不特异的机制而被剔除：携带余下的正常拷贝的染色体可能从细胞丢失，或者正常基因可能被有丝分裂重组或基因转换而产生的突变基因所代替。图 23-29 以 *Rb* 基因为例，总结了丢失余下的肿瘤抑制基因优良拷贝的可能性范围。

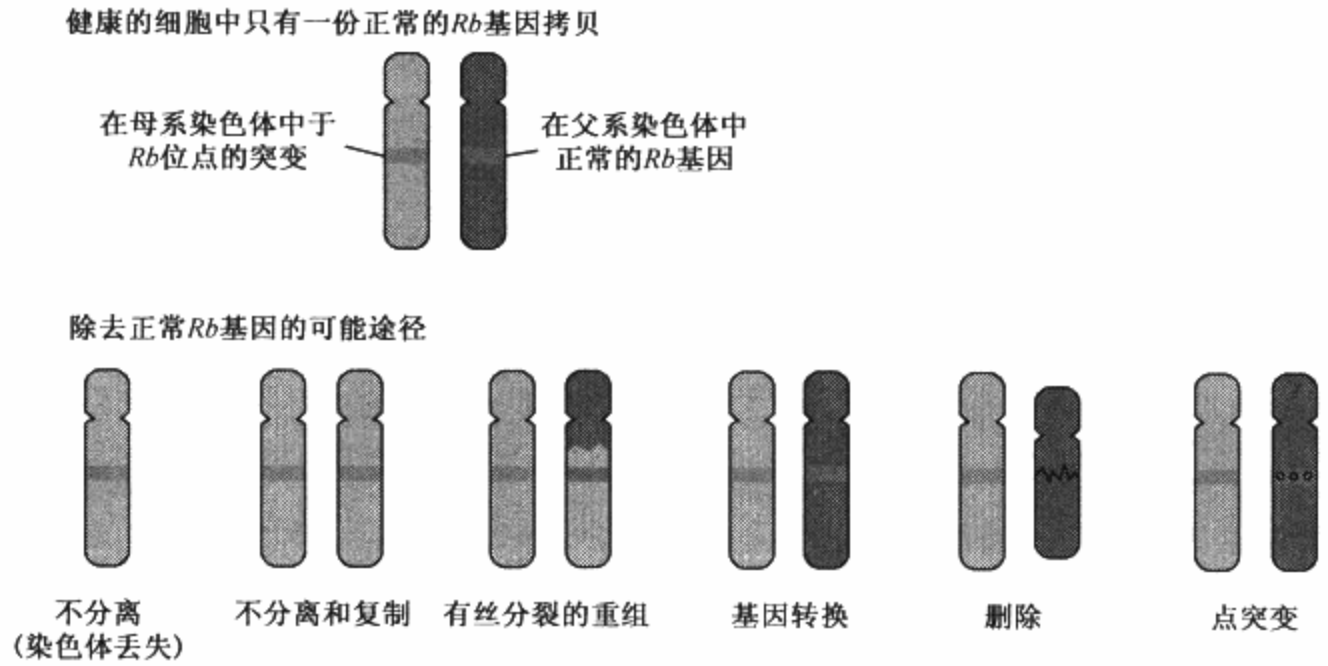


图 23-29　丢失一个肿瘤抑制基因余下的优良拷贝的 6 条途径

肿瘤抑制基因（如 *Rb* 基因）的两个拷贝仅有一个有缺失的一个细胞通常表现为一个健康正常的细胞；该简图显示，另一个基因拷贝的功能被丢失从而向癌症方向发展的可能途径。克隆的 DNA 探针结合多态现象的试验（讨论第 8 章）可用于分析肿瘤 DNA，并揭示在一个特定患者中发生哪类事件。某些肿瘤抑制基因中发生的第 7 条途径是，该基因可能被后生变化沉默，却不改变 DNA 序列（摘自 W. K. Cavenee et al.，*Nature* 305：779～784，1983. © Macmillan Magazines Ltd.）

寻找肿瘤关键基因仍在继续

人类基因组测序为系统地发现肿瘤关键基因开辟了一条新的道路。大体而言，现在可以给人类基因组中的 3 万多个基因绘制一张完整的表单，并检查特定的癌细胞系中的每个基因，通过自动分析细胞产生的 mRNA 或者基因组 DNA，寻找那些可能有重要意义的异常情况。通过将这一方法应用于适当数目的不同癌症，我们应该可能鉴定癌瘤中反复发生突变的那些基因。以一种彻底而系统的方式来开展这样一个课题，耗资非常巨大，但并非不可能，因为实际上仅有不到 2%的人类基因组用于编码蛋白质。这种努力已经着手进行。同时，合作企业已经着手建立一个易于获取癌症关键基因信息的交换中心——这些基因的序列、突变及其在许多癌性细胞和正常细胞中的表达情况。这种资料积累最终会勾画出一份详尽的其突变会促成癌症形成的基因目录。

为了用我们描述的这些方式寻找癌症关键基因，原则上一开始就没有必要知道它们的正常功能或明白其突变怎样引发癌症。就如涉及其他任何过程基因的遗传学筛选一样，这种策略首先就是找到罪犯，然后查明它们怎样犯罪。然而，随着我们对细胞生物学理解的提高，要猜出哪些基因可能起作用并利用其功能线索来跟踪就会变得更容易。因此，寻找基因的任务类似于发现它们有何作用。这是下一节所要讨论的主题。

小结

一般而言，癌症关键基因根据其危险突变是否引起功能丧失或获得可分为两大类。肿瘤抑制基因的功能丧失型突变解除正常情况下有助于保持细胞数目稳定的抑制作用；原癌基因的功能获得型突变在本不应该增加细胞数目时促使细胞增加其数目。后者具有显性效应，有时，被称之为癌基因的突变基因可通过它们促使专门的测试细胞系进行癌性增殖的能力来加

以鉴定。许多癌基因的首次发现是因为它们通过病毒载体感染动物时，可引发癌症。癌基因的定位也可通过检查人癌细胞基因的定向激活突变，或者通过能预示有癌症关键基因存在的染色体易位。

肿瘤抑制基因中的突变对细胞个体的影响通常都是隐性的：只有两个基因拷贝都不起作用才会失去控制。目前发现这些基因的方法依赖于扫描癌细胞基因组已获得基因丢失的信息，常常表现为特殊染色体区域杂合性的丢失。另一种方法是研究家族性癌症。尽管这些遗传类型的癌症很罕见，但却导致了肿瘤抑制基因的发现，这一基因功能的丢失是许多癌症的共同特性。这种易患癌症的个体常常遗传了肿瘤抑制基因的一个缺陷型拷贝和一个功能型拷贝，他们具有易患癌症的遗传体质，因为有了一个遗传的突变，在体细胞中的单个突变就足以产生一个完全丧失肿瘤抑制基因功能的细胞。由于最近人类基因组的测序以及明显 DNA 突变的系统搜寻工具的日益强大，我们应该不久就会得到一张完整得多的癌症关键基因目录。

癌细胞行为的分子基础

从癌基因角度来看，致癌基因和肿瘤抑制基因以及影响它们的突变是不同的。但是从癌细胞角度来看，它们又是同一事物的两个方面。对细胞行为的同类影响可因任何一类基因的突变而引起，因为细胞中的大部分调控机制都涉及抑制（肿瘤抑制基因）和刺激（原癌基因）两个方面。就功能而言，其重要区别并不在于肿瘤抑制基因和原癌基因的区别，而是在于不同生物化学途径和调控途径中的基因之间的区别。

癌瘤中的一些重要途径从细胞环境中传送信号（讨论见第 15 章）；另一些途径负责细胞的内部程序，如调控细胞周期或细胞死亡的程序（讨论见第 17 章）；还有一些则支配细胞的运动及其与周围细胞的机械相互作用（讨论见第 19 章）。各种不同途径以复杂方式相互联系和相互依赖。我们对这些途径的了解很多都是癌症研究的附加产物；相反，对细胞生物学这些基本方面的研究改变了我们对癌症的理解。

在本章第一节，我们用通用词汇概述了使癌细胞成为癌细胞的特性，并列出了癌细胞表现出的多种恶劣行为。我们将会在本节中考虑，每个特性是怎样由那些影响特异调控途径的癌症关键基因的突变而产生的。这个问题的部分答案是显而易见的，而其他部分则仍然有很多疑团。

一开始，我们就简明扼要地讨论了我们如何确定肿瘤关键基因的细胞功能。接着，我们回顾了这些癌症关键基因如何控制相关细胞行为。最后，我们以结肠癌的发生为例，阐明肿瘤是如何通过积累使其恶劣行为愈演愈烈的突变而演化的。

研究发育中的胚胎和转基因小鼠有助于揭示癌症关键基因的功能

对于一个在癌瘤中发生突变的基因，我们必须了解它如何在正常细胞中起作用，它的突变如何促成作为癌细胞特性的越轨行为。例如，最初克隆 *Rb* 时，我们知道的所有信息就是癌瘤中缺失这一基因。至于 *Ras*，我们知道该突变体基因促使细胞在培养基中进行过量的、不适当的增殖，但这种观察没有揭示 Ras 蛋白如何在正常细胞或癌细胞中起作用。在这两种情况中，癌症研究都是揭示这些基因产物在正常细胞中的关键作用的研究的起点——Rb 起细胞周期调控剂的作用，Ras 则作为细胞信号通路的中枢成分而其作用。

今天，我们对细胞知道的更多。结果，一个被鉴定为癌症关键基因的新基因，在另一项研究中它常常为人熟知。例如，人们发现许多癌基因和肿瘤抑制基因都是在胚胎发育中作用已知的基因同源物。例子包括细胞借此进行通讯的几乎所有主要发育信号通路的成分：Wnt、Hedgehog、TGFβ、Notch 和受体酪氨酸激酶信号通路都包括重要的癌症关键基因——*Ras* 基因是这些通路最后一步的组分。

事后看来，这并不奇怪。如我们在第 22 章所见，调控胚胎发育的相同信号机制在正常成体中运转，控制细胞更新和维持自身稳定。多细胞动物的发育及其成体结构的维持依赖于细胞间通讯以及受调节的细胞增殖、细胞分化、细胞死亡、细胞运动和细胞黏着——换言之，依赖于细胞行为的所有方面，这些行为障碍导致癌症。因此，常用模式动物如果蝇（*Drosophila*）和秀丽新小杆线虫（*C. elegans*）进行研究的发育生物学提供了开启许多癌症关键基因正常功能的一把钥匙。

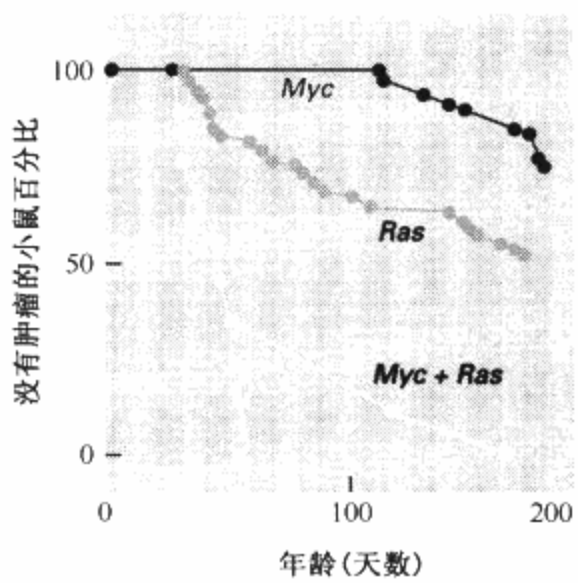


图 23-30　转基因小鼠中的癌基因合作

图中显示三种类型小鼠的癌症发病率，一种携带 *Myc* 癌基因，一种携带 *Ras* 癌基因，还有一种携带两个癌基因。这些试验首先构建了两个转基因小鼠品系。一个品系携带一个插入的癌基因拷贝，它通过将原癌基因 *Myc* 与小鼠乳房肿瘤病毒调控 DNA 融合（然后驱动 *Myc* 基因在特殊组织，如乳腺中过度表达）而产生。另一个品系携带一个插入的 *Ras* 癌基因拷贝，受到相同调控元件的调控。这两个小鼠品系发生肿瘤的频率都比正常的要高得多，通常发生于乳腺或唾液腺。携带这两个基因的小鼠则通过将这两个品系杂交而获得。这些杂合小鼠以高得多的速率发生肿瘤，远高于两个癌基因各自速率的总和。然而，肿瘤仅在经过一段延迟之后出现，并且仅产生于组织中两个基因都表达的一小部分细胞。除了这两个癌基因之外，癌症的发生显然需要某些进一步的偶然改变（摘自 E. Sinn et al., *Cell* 49：465～475，1987. © Elsevier）

然而，最终我们想知道这些基因的突变对产生癌症的组织中的细胞起什么作用。通过体外研究细胞或检查人癌患者，我们能获得一定量的信息。但是对于研究各种不同的癌症关键基因的突变如何影响整个机体组织，转基因小鼠特别有用。

所有细胞中都携带癌基因的转基因小鼠可通过第 8 章中详细描述的方法而产生。依照相关调节 DNA 的组织特异性，以这种途径导入的癌基因可在许多组织或有选择性的在少数组织中表达。这种转基因动物的研究显示，甚至在小鼠中，单个癌基因通常不足以将一个正常细胞转变成癌细胞。通常，在导入了 *Myc* 或 *Ras* 癌基因的小鼠中，表达癌基因的一些组织长得很大，随着时间的过去，偶尔有些细胞发生进一步突变，结果产生癌瘤。然而，表达 *Myc* 或 *Ras* 癌基因的转基因小鼠的绝大多数细胞不产生癌瘤，表明单个癌基因不足以诱发恶性肿瘤。然而，根据整体动物的观点，遗传的癌基因是一个严重威胁，因为它增加了发展成癌症的危险性。表达一个以上癌基因的小鼠可通过将一对转基因小鼠（例如，一个携带 *Myc* 癌基因，另一个携带 *Ras* 癌基因）配对而产生。这些子代发展成癌症的比率比任何一个亲本都要高得多（图 23-30），但另一方面，癌症开始时是在非癌性细胞之间形成散在的、孤立的肿瘤。因此，即使有这两个表达的癌基因，这些细胞也必须经历随机产生的进一步改变才能癌化。

正如可将激活的癌基因导入小鼠组织一样，肿瘤抑制基因也可通过反向遗传学技术“敲除”小鼠中的基因而失活（图 8-74）。小鼠中已有几个肿瘤抑制基因被敲除，包括 *Rb*。正如所期望的，许多缺失某个肿瘤抑制基因一个拷贝的突变株易于癌变。两个拷贝的缺失常常导致在胚胎期死亡，反映了这些基因在正常发育过程中所

起的关键作用。为了绕过这一障碍并看到纯合子突变的作用，人们可以运用第 8 章中描述的方法产生条件突变体，这样就只有一个组织（如肝脏）有缺陷。通过这些途径，转基因小鼠已经变成了一个有关肿瘤形成机制的关键信息源。我们将会在后面看到，它们也为开发癌症新疗法提供了重要的模型。

许多癌症关键基因调节细胞分裂

大部分癌症关键基因编码调节体内细胞社会行为的途径中的组分——尤其是邻近细胞释放的信号驱使细胞进行分裂、分化或死亡的机制（图 23-31）。实际上，细胞信号通路中许多成分的发现是通过搜寻致癌基因，原癌基因产物和肿瘤抑制基因的完整表单包括与细胞信号转导有关的几乎各种类型的分子——分泌蛋白、跨膜受体、GTP 结合蛋白、蛋白激酶、基因调控蛋白等（讨论见第 15 章）。许多癌瘤突变改变信号通路组成成分的方式是：甚至在并不需要更多细胞时，促使它们传递增殖信号，触发细胞生长、DNA 复制和不适当的细胞分裂。不适当地激活位于这种生长因子受体下游的受体酪氨酸激酶（如 EGF 受体或 Ras 家族中的蛋白质）的突变通过这种方式起作用。

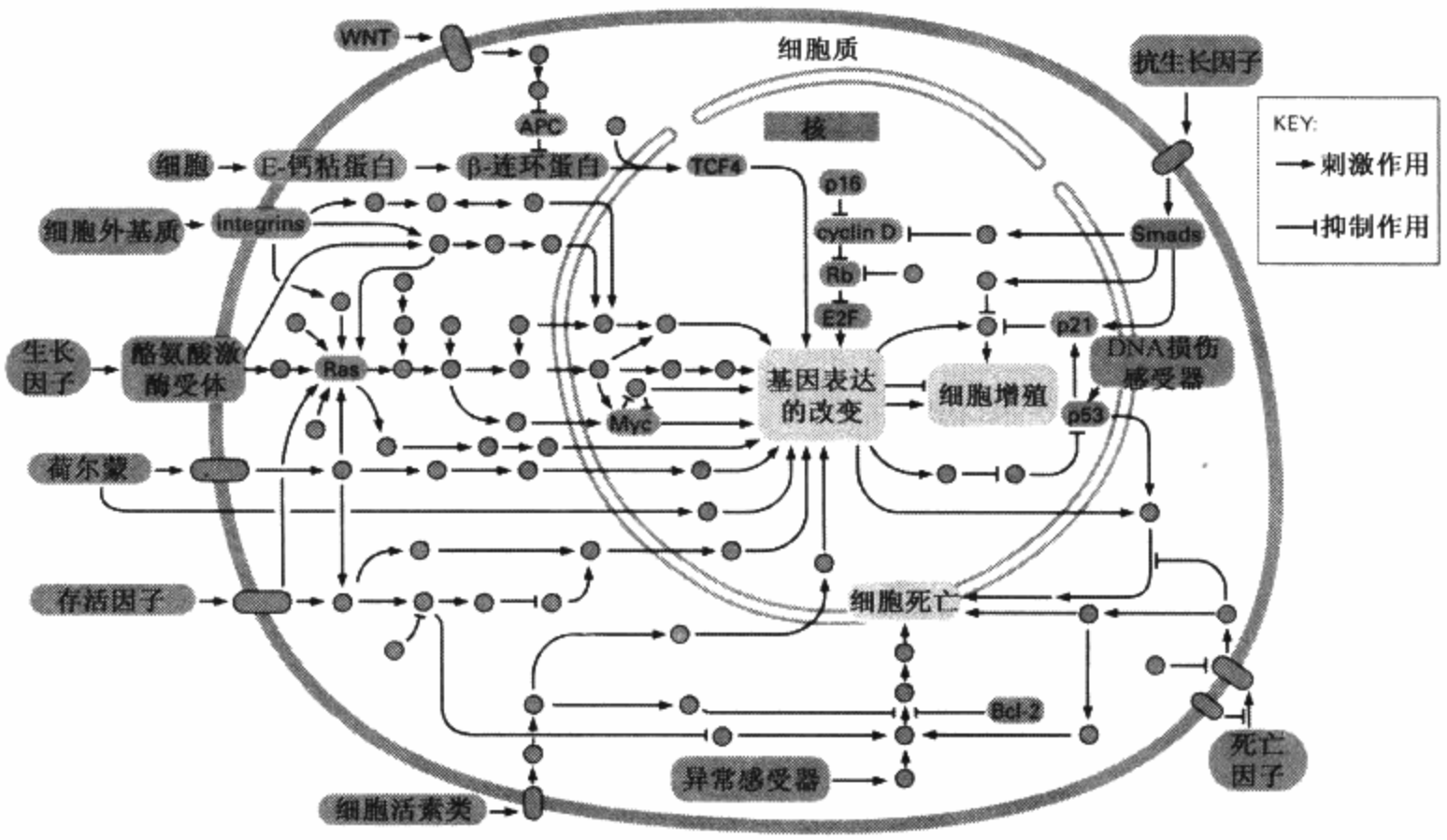


图 23-31　人细胞中与癌症相关的主要信号通路图

图中指出了癌症中的一些突变蛋白质的细胞定位。癌基因和肿瘤抑制基因的产物常常在同一途径中出现。各个信号转导蛋白用红色圆圈表示，本章中讨论的癌症关键组分和调控装置用绿色圆圈表示。蛋白质之间的激活和抑制相互作用如图所示（改编自 D. Hanahan and R. A. Weinberg, *Cell* 100：57～70，2000）

其他信号转导途径的功能还包括抑制细胞分裂，最好的例子是信号传递蛋白的 TGFβ 家族的抗生长效应。通过 TGFβ 介导途径失去生长抑制促成了几种类型人类癌症的发生。在一些结肠癌中，受体 TGFβ-RII 发现有突变，Smad4 是该途径中一个关键的信号转导蛋白，它在胰腺和其他一些组织的癌症中被失活。

最后，调节细胞分裂的癌症关键基因通过作用于细胞周期调控枢纽装置而发挥其作用（图 17-41）。不足为奇的是，这种装置的突变是许多癌症的显著特征。如第 17 章所述，细胞

决定复制其 DNA 并进入细胞分裂的关键点被认为受到 Rb 蛋白（肿瘤抑制基因 *Rb* 的产物）的调控。Rb 蛋白起制动器作用，它通过结合基因调控蛋白（调控其产物是细胞周期运行所必需的基因）限制细胞进入 S 期，这种调控蛋白。通常，Rb 蛋白的这种抑制作用在适当时候通过其磷酸化而被减轻。

如我们所见到的，许多癌细胞通过完全删除 Rb 蛋白而不适当的增殖。其他肿瘤通过获得 Rb 调控途径中其他成分的突变而达到同样的目的（图 23-32）。因此，在正常细胞中，细胞周期蛋白 D1 和周期素依赖性蛋白激酶 Cdk4（G_1-Cdk）形成的复合体通过磷酸化 Rb 蛋白而促进细胞周期的进行（图 17-30）。p16（INK4）蛋白（在细胞受到压迫时产生）通过阻止火星细胞周期蛋白 D1-Cdk4 复合体的形成而抑制细胞周期的进行。人们发现一些成胶质细胞瘤和乳腺癌扩增编码 Cdk4 或细胞周期蛋白 D1 的基因，因而有利于细胞增殖。*p16* 基因的缺失或失活在许多类型的人癌中是共同的。在没有被突变失活的癌瘤中，该基因常常被其调控 DNA 的甲基化所沉默。

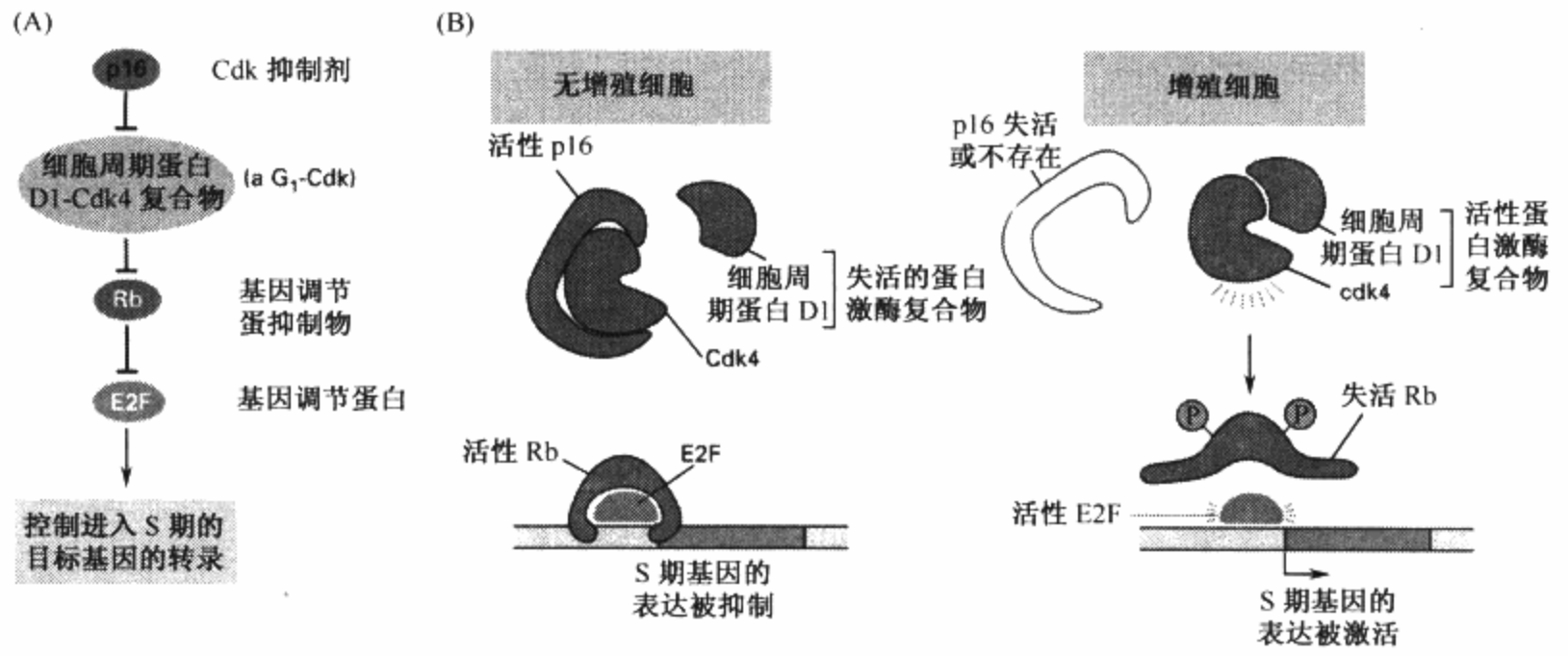


图 23-32　通过 Rb 蛋白控制细胞周期的途径

该途径的所有组分在人类癌症中都有突变（原癌基因产物用绿色表示；肿瘤抑制基因产物用红色表示；E2F 用蓝色表示，因为它兼具抑制和激活作用，这依赖于与之结合的另一种蛋白质）。在大多数情况下，仅有一个组分在任何一种癌症中都发生改变。（A）该途径中的依赖关系简图；进一步详情见图 17-30。（B）Rb 蛋白未被磷酸化时抑制进入细胞分裂周期。Cdk4 和细胞周期蛋白 D1 复合体使 Rb 磷酸化，因而促进细胞增殖。当细胞受到应激时，p16 蛋白抑制活性 Cdk4/细胞周期蛋白 D1 复合体，阻止增殖。*Rb* 或 *p16* 的突变失活促进细胞分裂（因此每个都可视为一个肿瘤抑制基因），而 Cdk4 或细胞周期蛋白 D1 的过度活性则促进细胞分裂（因此每个都可视为一个原癌基因）

癌瘤中改变细胞周期调控装置的途径的多样性说明了两个重要问题。第一，它解释为什么表现出相同症状的特殊癌症的病例可能由不同的突变产生：在许多情况下，几种可供选择的突变对细胞增殖有相同的影响。第二，受癌基因（通过突变而激活）和肿瘤抑制基因（通过突变而失活）影响的过程之间没有根本差异。这两类癌症关键基因的不同仅仅在于它们在通过中是起刺激作用还是起抑制作用（图 23-31）。

调控细胞凋亡的基因的突变允许癌细胞逃离自杀

为了获得净细胞增殖，不仅需要驱使细胞进行分裂，还必须使细胞避免自杀。在许多正常情况下，细胞持续分裂，但细胞分裂通过细胞消亡而保持精确平衡。例如，在淋巴结的生

发中心，B 细胞快速增殖，但其大多数子代通过细胞凋亡而被清除。因此，细胞凋亡的重要意义在于，在进行细胞更新的组织中维持细胞的生死平衡。它还对损伤和紊乱的细胞反应有重要作用。如第 17 章所述，多细胞生物中的细胞在它们意识到某些方面出现故障时（当其 DNA 受到严重损伤时，或者当它们被剥夺那些告诉它们处于正确位置的生存信号时）就走向自杀。因此，对细胞凋亡的抗性是恶性细胞的一个关键特性，这对细胞增加数目并在本不该出现的地方生存下去至关重要。

许多抑制细胞凋亡的突变都已在癌瘤中发现。有一个阻断细胞凋亡的蛋白质，称为 Bcl-2，它的发现是因为它是一个 B 细胞淋巴瘤中染色体易位的靶子。易位的效应是使 *Bcl-2* 基因受到促进过度表达的调控元件的控制，因而允许在正常情况下本该死亡的 B 淋巴细胞得以生存下去。

然而，在所有与调控细胞凋亡的癌症关键基因中，有一个基因与绝大多数组织中的肿瘤有关，这个基因称为 *p53*，位于控制细胞对 DNA 损伤和其他应激性灾害的通路网络的关键交叉点。细胞凋亡的调控仅是基因功能的一部分——不过是非常重要的一部分。正如我们现在将要说明的，当 *p53* 有缺陷时，遗传损伤细胞不仅不会死亡，更为恶劣的是，它们继续疯狂增殖，积累更多能导致癌症的遗传损伤。

p53 基因的突变允许癌细胞在发生 DNA 损伤时存活并增殖

p53 基因（以蛋白质产物的分子质量而命名）可能是人类癌症中最重要的基因。在所有人类癌症中，约一半有肿瘤抑制基因突变。是什么使 *p53* 如此重要呢？答案在于它牵涉到细胞周期调控、细胞凋亡和遗传稳定性的维持三个方面——p53 蛋白在保护生物体免受细胞损伤和障碍的重要作用的各个方面。

与 Rb 蛋白相反，在正常情况下，体内大部分细胞中仅发现极微量的 p53 蛋白。实际上，正常发育不需要 p53 蛋白：两个基因拷贝都被敲除的转基因小鼠除了一个方面外，在其他各个方面似乎都是正常的——通常它们在 3 个月时发展成癌症。这些观察结果暗示，p53 蛋白的功能可能只是偶尔需要或在特殊环境中需要。实际上，当正常细胞被剥夺氧气或接受损伤 DNA 的治疗（如紫外线或 γ 射线）时，它们通过降低分子降解的正常速度来提高 p53 蛋白的浓度。p53 反应还在癌基因如 *Ras* 和 *Myc* 被激活（产生细胞分裂的异常刺激物）的细胞中见到。

在所有这些例子中，高水平 p53 蛋白限制损伤起作用。依靠环境和损伤的严重程度，p53 蛋白驱使受损的或突变的细胞通过细胞凋亡而自杀（多细胞生物题的一个相对无害事件）或者可能触发阻碍细胞分裂的机制，只要损伤仍然未被修复。p53 蛋白提供的保护是为何激活癌基因（如 *Ras* 和 *Myc*）的突变本身不足以产生肿瘤的重要原因之一。

正如第 17 章所讨论的，p53 蛋白发挥其细胞周期效应至少部分是通过结合至 DNA 诱导 *p21* 基因（其蛋白质产物结合至进入和通过 S 期所需的 Cdk 复合体的一个调控基因）的转录。

p53 基因缺陷的细胞不会出现这些反应。它们倾向于逃离细胞凋亡，如果它们的 DNA 受到放射线或其他一些灾害的伤害，它们就修复由这种伤害引起的缺口和其他 DNA 损伤，进行 DNA 复制，继续分裂。结果，它们可能死亡或更糟糕的是，在基因组被破坏的情况下生存下来并增殖。常见的后果是，染色体片段化并重新连接，在经过几轮细胞分裂，基因组出现更多断片，如图 23-33 所示。例如，通过基因扩增，这种染色体损伤可能导致肿瘤抑制基因的丢失和癌基因的活化。除了作为活化癌基因的一种重要机制，基因扩增还能使细胞产生对治疗药物的抗药性，关于这一点，我们将会在下面看到。

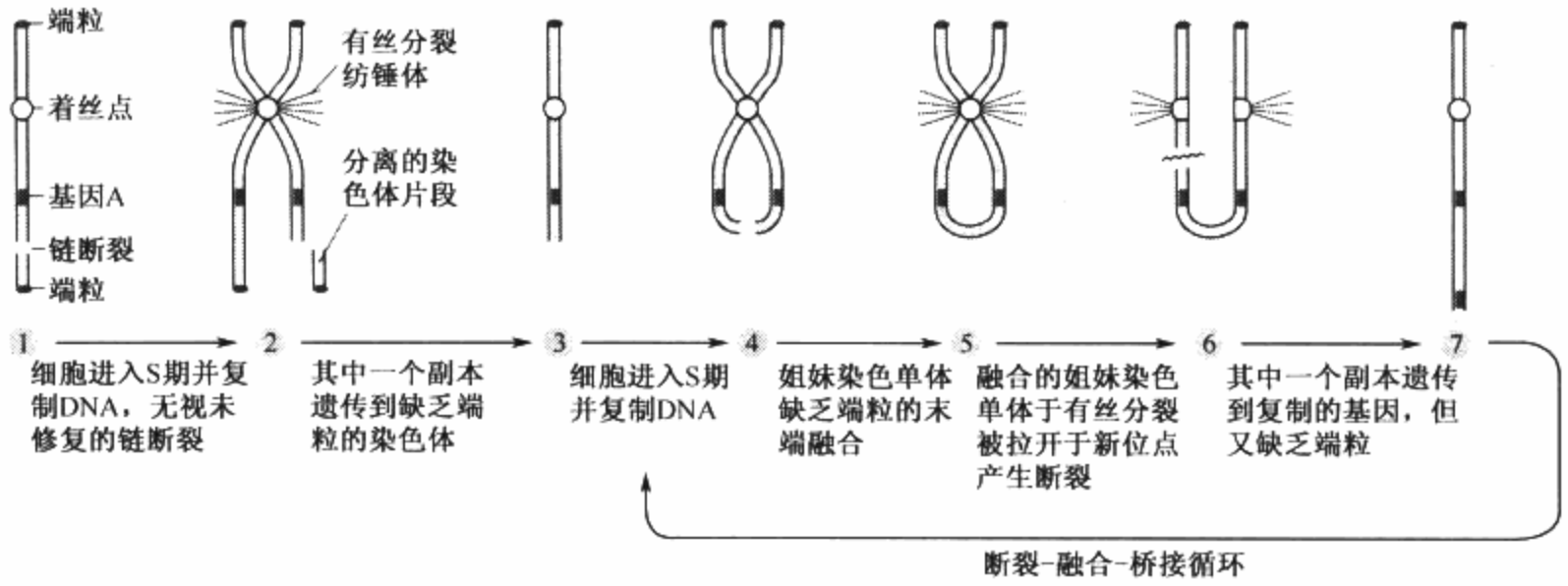


图 23-33　损伤 DNA 的复制怎样才能导致染色体变异、基因扩增和基因丢失

图中显示其中一个可能机制。该过程开始于一个缺乏功能性 p53 蛋白的细胞中的意外 DNA 损伤。p53 缺陷细胞在分裂周期的 p53 依赖型检查点并不停止（有 DNA 损伤的正常细胞在此处停下，直至损伤被修复）而是进入 S 期，发生所示结果。一旦产生一条携带一个副本并缺乏端粒的染色体，那么经过几轮复制、染色单体融合和不等断裂循环（即所谓的断裂-融合-桥循环）之后，可进一步增加重复区的拷贝数。对受累染色体区域的一个基因的拷贝数增加的细胞有利的选择将产生该基因的高拷贝突变体。多拷贝最终可能在染色体的同源染色区见到，或者它们可能（或者通过重组事件，或者通过未修复的 DNA 链断裂）从其原始位点被切除，从而成为独立的双微染色体（图 23-28）。染色体病也可导致基因的丢失，这有利于失去肿瘤抑制基因的细胞的选择

总之，p53 蛋白协助多细胞生物体安全应付 DNA 损伤和其他应激性细胞事件，在有害环境中起到遏制细胞增殖的作用。许多癌细胞含有大量 p53 突变体蛋白（种类多而无用），暗示它们经历的遗传事件或在不适环境中的生长胁迫产生了在正常情况下使 p53 蛋白起作用的信号。因此，p53 基因活性的丧失可能有三种危险与癌症有关。第一，它允许缺陷型错误突变细胞继续通过细胞周期。第二，它允许这些细胞逃脱细胞凋亡。第三，它导致出现作为癌细胞特征的遗传不稳定性，随着分裂的进行，允许积累更多的促癌突变。其他许多突变都能促成这些恶劣行为的某一种，但 p53 突变促成所有类型的恶劣行为。

DNA 肿瘤病毒通过阻断关键肿瘤抑制基因的行为激活细胞复制装置

DNA 肿瘤病毒引发癌症主要是通过妨碍细胞周期调控，包括依赖于 p53 的那些方式。要理解这种类型的病毒性癌发生，那么理解病毒的生活史是重要的。病毒利用宿主细胞的 DNA 复制装置来复制其基因组。为了从单个宿主细胞制造许多感染性病毒粒子，DNA 病毒必须强占并努力驱动这一装置，突破 DNA 复制的正常限制，通常在此过程中杀死宿主细胞。然而，在典型情况下，病毒还有另外一个选择：它繁殖其基因组，就像宿主细胞中一个安静的、循规蹈矩的过客，在有序的细胞分裂周期进程中同宿主细胞 DNA 一起进行复制。病毒能在这两种存在模式之间转换，处于潜伏和无害状态或者根据环境状况进行增殖以产生感染性粒子。无论病毒采用哪种生活方式，就其利益而言，都不会引发癌症。但是可能发生遗传偶发事件，结果，病毒误用其装备强占 DNA 复制装置，不是触发其自身基因组的快速复制，而是宿主细胞的持续增殖。

DNA 病毒是一组多样性有机体，但是此类有机体似乎大部分碰巧与癌症有关。例如，乳头瘤病毒是人疣的病因，对宫颈癌（约占所有人类癌症的 6%）而言，它是一个尤为重要的关键致病因素。乳头瘤病毒感染上皮，并作为染色体外质粒滞留在基底层细胞内，与染色体

复制同步。当细胞在从表面脱落之前开始分化时，感染性病毒粒子在上皮层外侧产生。细胞分裂通常在这里应该会停滞下来，但是病毒妨碍这种停滞，以便允许其自身基因组的快速复制。通常，这种作用局限于外层细胞，并且是相对无害的，正如疣一样。偶尔，通过引起病毒基因（其产物阻止细胞周期停滞）错误调节的遗传偶发事件，细胞分裂的调控在基底层被颠覆，在上皮的干细胞中也有发生。在起癌基因作用的病毒基因的帮助下，这可能导致癌症（图 23-34）。

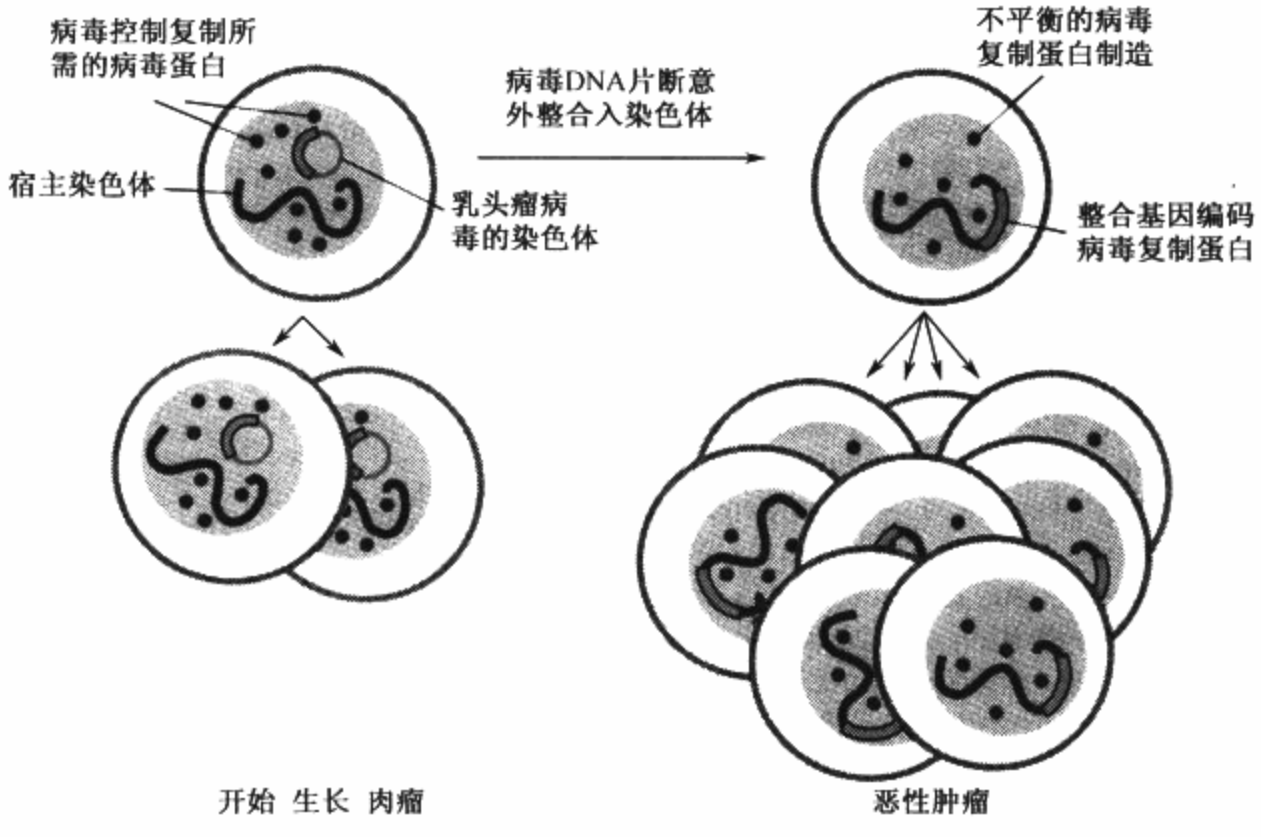


图 23-34　某些乳头瘤病毒引发宫颈癌的方式

乳头瘤病毒有约 8000 个核苷酸对的双链环状 DNA 染色体。在疣或其他良性感染中，这些染色体以质粒形式稳定存在于上皮组织的基底细胞中，其复制受到调控，以便与宿主染色体保持同步（左）。罕见事件能使这样一种质粒的片段整合进宿主染色体，从而改变病毒基因的环境。这（或者可能还有其他一些原因）破坏了病毒基因的表达调控。病毒复制蛋白的失控生产阻碍细胞分裂的控制，因而有助于产生癌瘤（右）

在乳头瘤病毒中，主要起作用的病毒基因称为 *E6* 和 *E7*。这些病毒癌基因的产物与许多宿主细胞蛋白相互作用，尤其是与宿主细胞两个关键肿瘤抑制基因的蛋白质产物结合，使之失去作用，因而允许细胞复制其 DNA 并以一种不受控制的方式进行分裂。这些宿主蛋白其中之一就是 Rb 蛋白：病毒 E7 蛋白通过与 Rb 蛋白结合而阻止 Rb 结合到它在细胞中的正常相关成分。为病毒失活的另一个宿主蛋白是肿瘤抑制蛋白 p53，它与病毒 E6 蛋白结合，触发 p53 蛋白的降解（图 23-35）。p53 蛋白的消除允许异常细胞存活、分裂和积累更多异常。

端粒缩短可能为人类癌症铺路

小鼠是癌症研究中最广泛使用的模式生物，但是在小鼠中见到的癌症谱与人类中见到的有很大不同。绝大多数小鼠癌症是肉瘤和非白血性白血病，而 80%以上的人类癌症是发生快速细胞更新的上皮癌（图 23-2）。已经发现小鼠癌症的许多方法，但同样的疗法应用于人时，通常都不成功。小鼠癌症和人类癌症之间差异的原因是什么，有关此病的分子机制又能告诉我们什么呢？答案的一个重要方面可能在于端粒的行为以及端粒缩短、复制性细胞衰老和遗传稳定性之间的关系。

如先前所见，大多数的人细胞似乎都存在对其增殖的固有限制：它们表现出复制性衰老，

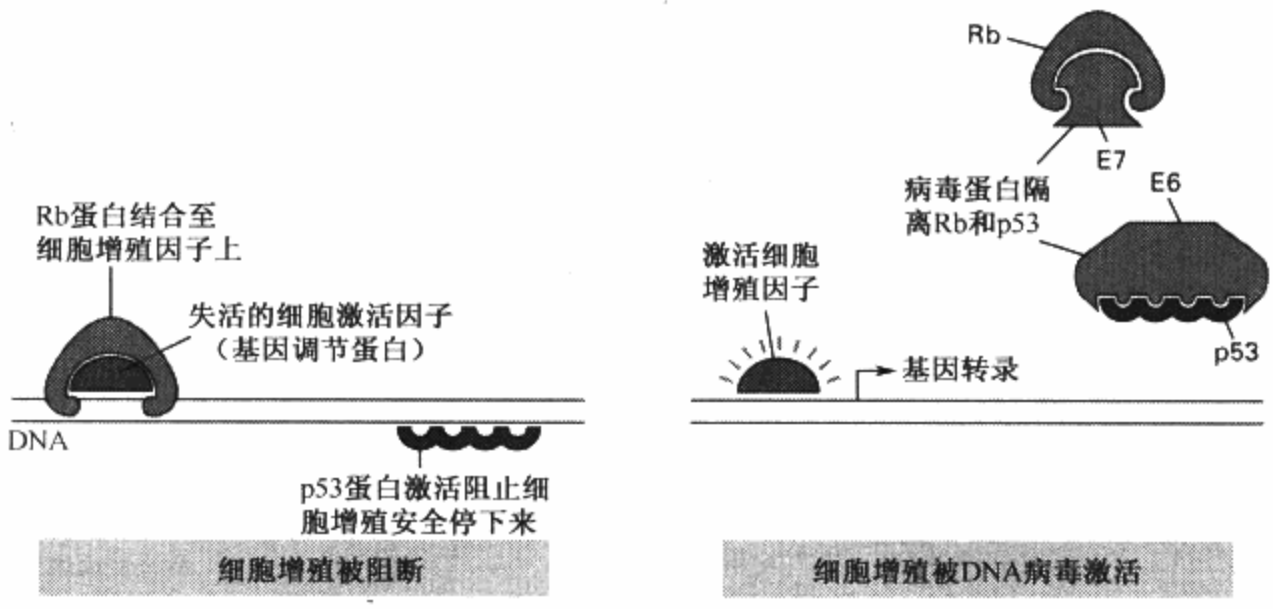


图 23-35　DNA 肿瘤病毒激活细胞增殖

乳头瘤病毒利用两种病毒蛋白，E6 和 E7，分别将宿主细胞的 p53 蛋白和 Rb 蛋白分隔开。出于相同原因，SV40 病毒（感染猴子的相关病毒）利用一个称为大 T 抗原的双重目的蛋白。E6 蛋白的结合导致其 p53 伴侣的泛素化，诱导 p53 蛋白水解作用（未指出）

至少在培养基中生长时如此。现在认为，人的复制性细胞衰老由**端粒**结构（位于每条染色体末端的重复 DNA 序列和相关蛋白质）的变化引起。这些端粒 DNA 序列通过一个需要端粒酶的特殊机制而合成并维持，这在第 5 章中解释。除了胚系细胞和一些干细胞，在大多数的人细胞中，编码端粒酶催化亚基的基因的表达被关闭，或者至少没有被完全激活。结果，在这些细胞中的端粒经历每轮细胞周期之后会变得略短一些。最后，染色体末端的端粒帽可能变短到产生危险信号的临界点，使细胞周期停滞。此信号至少在功能上类似于当由于意外双链染色体断裂而产生无帽 DNA 末端时使细胞周期停滞的信号。在这两种情况下的效应都是阻止细胞分裂，只要细胞含有断裂 DNA 或帽长不够的 DNA。在含有染色体断裂的细胞中，这就有时间允许 DNA 进行修复。在正常衰老细胞中，这似乎仅仅是使细胞增殖停止。正如我们在本章开始时讨论的，现在还不清楚在正常人组织中细胞遭遇这种限制的频率；但是，如果一个自我更新细胞群体的确遭受复制性衰老，那么任何发生促分裂突变的恶性细胞将会有巨大的竞争优势——如果相同突变发生于一个非衰老群体中的细胞，那么这种优势要大得多。从这方面来看，复制性衰老可能有利于癌症发生。

小鼠的端粒比人的长得多。而且，它们的端粒酶与人的不同，在体细胞中有活性，因此鼠端粒酶不会随着机体年龄的增加而缩短。然而，运用基因敲除技术使小鼠缺乏功能性端粒酶是可能的。在这些小鼠中，其端粒一代比一代短，但是并没有见到不利后果，除非到原始突变体后第四代，才见到端粒的缩短以至消失或失去功能。此后，小鼠开始表现出各种异常，包括癌症发生率的增加。这增加了端粒自然缩短促进引发多种肿瘤的可能性。

在一群端粒缺陷的细胞中，p53 的丢失打开了一条通往癌症的林荫大道

与大部分正常的人细胞相反，大多数人类癌症细胞表达端粒酶。这被认为是为什么它们与正常细胞不同，能在培养基中无限分裂的原因。这是端粒维护在癌症中有重要作用的证据之一。

假定癌细胞携带有端粒酶，一个显而易见的提议就是，它们由那些只是避免端粒缩短的突变前体产生，因此绝不会遇到细胞分裂的端粒限制。然而，还有另一种通过观察缺陷端粒

酶的小鼠而提出的可能性。癌瘤可能来源于一个细胞，该细胞的端粒缩短，但携带一个突变，这一突变使细胞忽视由于端粒过短而阻止细胞分裂的信号。促使 p53 活性丧失的突变可能有这样一种效应：它发生于一个由于端粒缩短而停止增殖的群体中的一个细胞，并能赋予那个细胞及其子代对其非分裂邻近细胞的竞争优势。同时，正如图 23-36 解释的，p53 蛋白的缺失能导致染色体的不稳定性（这是人类癌症的特性），允许突变细胞积累更多的，并迅速向癌瘤演化。这就是在端粒酶缺陷的小鼠中发生的现象。如果它们不仅缺乏端粒酶，还缺乏 p53 基因的两个拷贝之一，那么癌发生就更频繁。显然，这些附加癌瘤主要是上皮癌（自我更新上皮中发生的癌）而不是小鼠中常见的肉瘤或淋巴瘤。上皮癌是最常见的一类人类肿瘤。因此，端粒行为的差异是在正常小鼠和出现主要类型癌瘤的人之间观察到的主要差异。如同人上皮癌细胞，小鼠肿瘤细胞常常被发现失活它们最后剩下的 *p53* 基因；它们也表现出大范围染色体异常，如多种断片、融合片段和断裂的染色体末端。

如果将这种情况应用于人类癌症，那么端粒酶的再活化就应该在遗传灾害之后而不是之前。p53 蛋白丢失之后的进行性遗传灾害可能非常严重，以至细胞几乎仅能存活数代。端粒酶表达再活化的细胞能阻止灾难性细胞周期的运转，使染色体重新获得足够的稳定性，借以存活下去（图 23-36）。它的子代将获得一组高度异常的染色体，伴有许多突变和变更；然后，这些受损细胞以更合适的速率继续积累更多的突变，促进进行性肿瘤形成。这种模型与检查结果一致：以乳腺癌和结肠直肠癌为例，在端粒酶再活化之前，大范围染色体异常似乎在肿瘤发育早期产生。端粒酶使得这些上皮癌仍然拥有足够的遗传不稳定性（由于 p53 的丢失或其他突变）因而继续演化，结果导致转移。

可能许多最常见类型的人上皮癌都是以我们刚才描述的方式开始产生。但是，癌症肯定还通过许多其他途径产生，人类癌症的复制性衰老和端粒行为的真正意义仍有待确定。这些不确定强调，我们对癌症的自然史仍然知之甚少，尽管在对癌症分子遗传学的理解方面已经取得了巨大进展。不过，这些结果至少表明，端粒缺陷型小鼠能给常见的人上皮癌的研究提供合适的模型。也许，这种小鼠模型还将有助于我们设计对人有效的癌症疗法，就像对小鼠一样。

导致转移的突变仍然是一个谜

也许，我们对癌症理解最严重的分歧与恶性和转移有关。我们必须清楚地鉴定明确容许细胞侵入周围组织、向全身扩散并形成转移灶的突变，实际上，究竟癌细胞必须具备什么特性才能转移还不甚清楚。一个极端的观点是，体内癌细胞转移的能力并不比细胞分裂调控的丢失需要更多的遗传改变。相反的观点也是获得更多支持的观点是，转移对细胞而言是一项困难而复杂的任务，需要大量新突变——突变是如此之多，且随环境而异，以致难以弄清楚它们各是什么。

在转移过程中的哪个步骤最困难仍有争议。但有一些有助于阐明此问题的实验结果。显然，首先转移对不同的细胞而言是不同的。对一个通过血液循环在全身移动的非白血性白血病细胞而言，其转移应该比必须从上皮脱离的上皮癌细胞更容易。正如我们在本章开始时所见，它有助于区别代表进行性肿瘤两个不同阶段的两种恶性程度。在第一个阶段，肿瘤细胞逃离亲代上皮的正常范围，开始侵入紧靠下方的组织——局部侵入（local invasiveness）。在第二个阶段，它们迁移至远处部位，并安定下来形成集落，这一过程称为转移（metastasis）。

局部侵入需要瓦解正常情况下使上皮细胞聚在一起的机制。在一些胃癌和乳腺癌中，上皮细胞钙黏蛋白（E-cadherin）基因经鉴定是一种肿瘤抑制基因。上皮细胞钙黏蛋白的主要

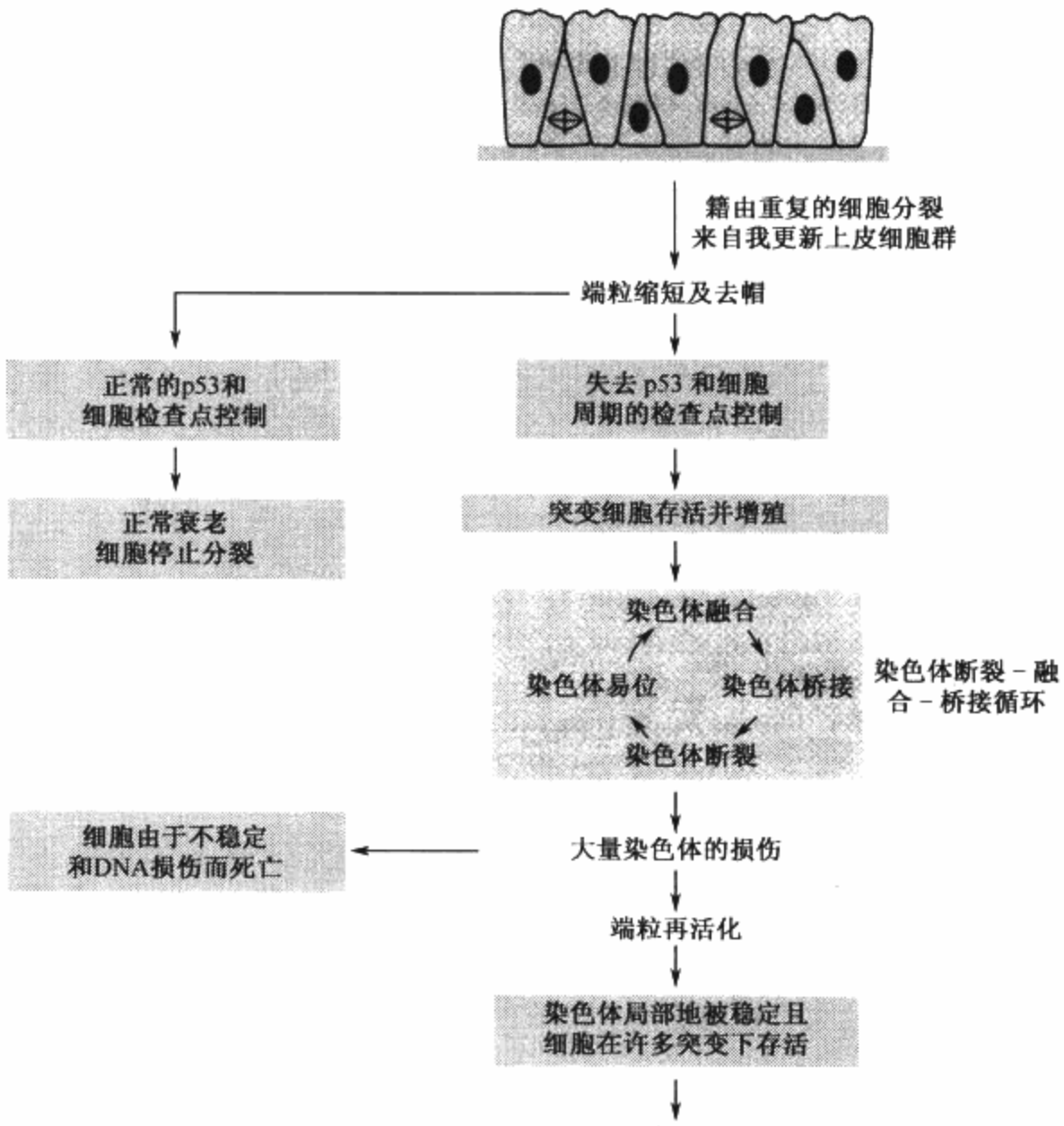


图 23-36　缩短的端粒如何导致染色体不稳定性和癌症的一种观点

大多数人细胞缺少端粒酶。这类细胞分裂时，位于染色体两端的端粒逐渐缩短。经过许多次分裂之后，端粒变得很短，以致停止正确地发挥功能，染色体末端端粒过短会产生一个类似于双链断裂产生的胞内信号。在仍产生功能性 p53 且其细胞周期检查点未受损伤的正常细胞中，这会触发细胞分裂的停止（复制性衰老）。但是，*p53* 基因或细胞周期检查点发生突变的细胞群体内的一个稀有细胞可能忽视这一信号并持续分裂，从而进入一个引起染色体重大损伤的断裂-融合-桥循环（图 23-33）。一些细胞可能通过重新活化端粒酶而在发生遗传损伤的这一时期中存活下来。然后，这些受损细胞继续积累产生癌症所需的额外突变

功能是细胞间黏着，该蛋白质嵌入两层质膜之间，将上皮细胞结合在一起（图 19-24）。当将缺乏这种黏着分子的肿瘤细胞置于培养基中并将功能性上皮细胞钙黏蛋白基因导入其中时，它们丧失某些侵入特性，并开始更像正常细胞那样黏着。因此，上皮细胞钙黏蛋白的丢失可能通过特异性促成局部侵入而对癌症有利。

恶性肿瘤的第二个阶段更加复杂，涉及进入血流或淋巴管，通过循环而迁移，并在远处定居。例如，细胞必须跨越诸如亲本上皮和血管基底层等障碍。为了能够做到这一点，它们需要获得额外的突变吗？答案并不清楚。为了弄清楚细胞在转移过程中的哪一步最困难（因而可能需要得到额外突变的帮助）人们可以用荧光染料标记癌细胞，将它们输入活体动物的循环系统，并监测它们的命运。在这些实验中，人们发现，许多细胞能在循环系统中存活，寄居于小脉管中，然后逃离出来进入周围组织，不管它们是来自转移肿瘤还是非转移肿瘤。此后发生大量的细胞丢失。一些细胞立即死亡；一些细胞进入异源组织并存活

下来，但不能生长；还有一些细胞分裂几次之后便停止分裂。有能力转移的细胞比其非转移亲缘细胞的表现要好得多，提示在异源组织中生长的能力是转移细胞必须获得的一个关键特性（图 23-37）。

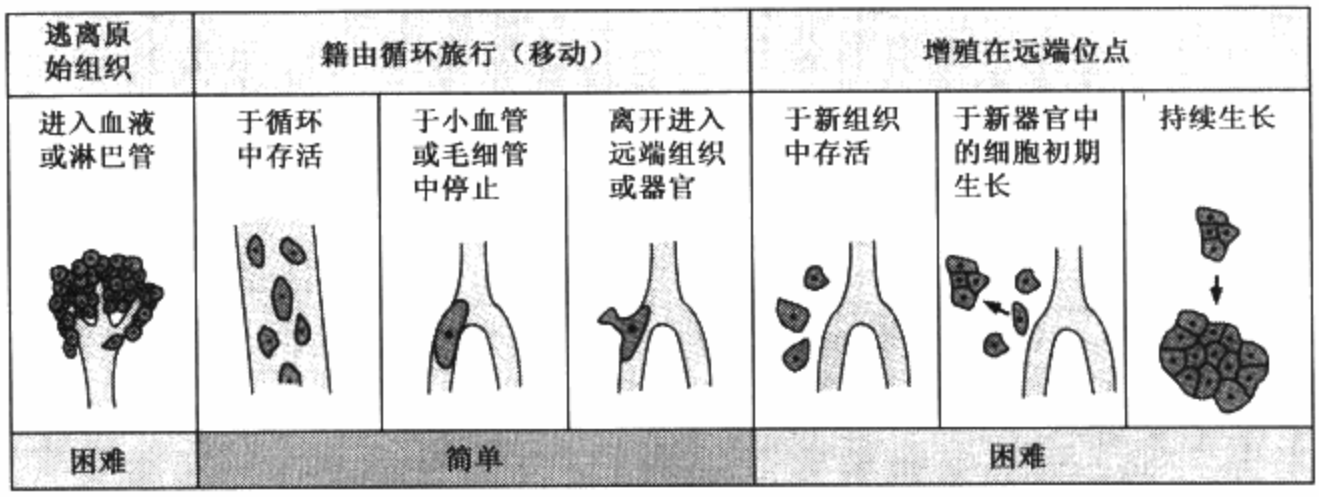


图 23-37　转移的障碍

在研究标记肿瘤细胞离开肿瘤发生处、进入循环并建立转移灶时，发现图 23-15 中概括的转移过程的哪些步骤是困难的或“效率低的”，即在这些步骤中，大量细胞衰退、丢失。正是在这些困难步骤中，高转移细胞比非转移细胞的成功要容易得多。似乎从原发组织逃脱的能力以及在异源组织中存活、生长的能力是细胞为了转移而必须获得的关键特性（改自 A. F. Chambers et al., *Breast Cancer Res.* 2：400～407，2000）

为了弄清楚赋予细胞转移潜能的那些改变，人们可以利用 DNA 微阵列寻找在高度恶性的癌细胞中被选择性开启的基因。这些微阵列允许人们一次监测数千个基因的表达（图 8-64）。有这样一个研究，将经筛选具有高度转移潜能的人和小鼠的黑色素瘤细胞与其低转移潜能相似物进行比较。似乎在恶性细胞中有选择性活性的十多个基因中，在转移细胞中反复出现表达量增加的一个基因是 *RhoC*——调节细胞运动性的基因家族中的一个成员（见第 16 章）。这类方法结合人类基因组序列会变得更加有效，它的大范围使用不久应该给我们一幅更清晰的、允许肿瘤细胞转移的分子变化图。

结肠直肠癌通过一连串的可见突变而缓慢演化

本章一开始我们就看到，大部分癌症都是从单个编译细胞逐步发展而来，通过积累许多独立遗传事件而使良性肿瘤进展成恶性肿瘤。我们讨论了这些事件中其中一些的分子基础，并看到它们如何导致恶性行为的发生。现在，我们更详细地考察一类特殊的常见人类癌症，用它阐明并扩展我们已经介绍过的一些普遍原理和分子机制，并根据这些原理和机制来看我们如何利用这些疾病的自然史。我们以结肠直肠癌为例，因为我们已在体内跟踪并在分子水平上仔细研究过进行性肿瘤的每一步。

结肠直肠癌出生于结肠和直肠（消化道的下末端）的内表皮。这是常见病，目前在美国每年导致 6 万多人死亡，约占癌症死亡总数的 11%。像大多数癌症一样，它们通常要到年龄较大时（90%为 55 岁以后）才能被诊断出来。然而，正常成人的结肠镜（一个光导纤维装置，用于观察结肠和直肠的内表面）常规检查常常发现在消化道上皮有微小的良性肿瘤或称腺瘤，其存在形式是一团被称为息肉的突出组织［图 23-38（A）］。一般认为，这些腺瘤性息肉是大多数结肠直肠癌的前身。因为该疾病进展非常缓慢，通常期限为 10～35 年，在此期间，缓慢生长的肿瘤可探测但还没有转变成恶性。因此，当人们在 50 多岁时接受结肠镜扫描筛查并切除息肉（一个简单快速的外科手术）随后的结肠直肠癌发生率会非常小，根据某些

研究，还不到应有发生率的 1/4。

结肠癌为之前讨论过的进行性肿瘤现象提供了一个清晰的例子。在直径小于 1cm 的息肉中，细胞及其它们在上皮中排列的局部细节通常几乎是正常的。息肉越大，它就更有可能含有看上去处于异常未分化状态并形成异常组织的结构的细胞。有时，在一个息肉内还能鉴别出两个或两个以上区域，一个区域的细胞似乎相对正常，而另一个区域的细胞似乎明显为恶性，好像它们是在腺瘤细胞的最初集落中产生的一个突变亚克隆。在该疾病的较后阶段，这些肿瘤细胞具有了侵入性，首先突破上皮基底层，然后穿过环绕消化道的肌肉层而扩散［图 23-38（B)］，最后转移至淋巴结、肝脏、肺和其他组织。

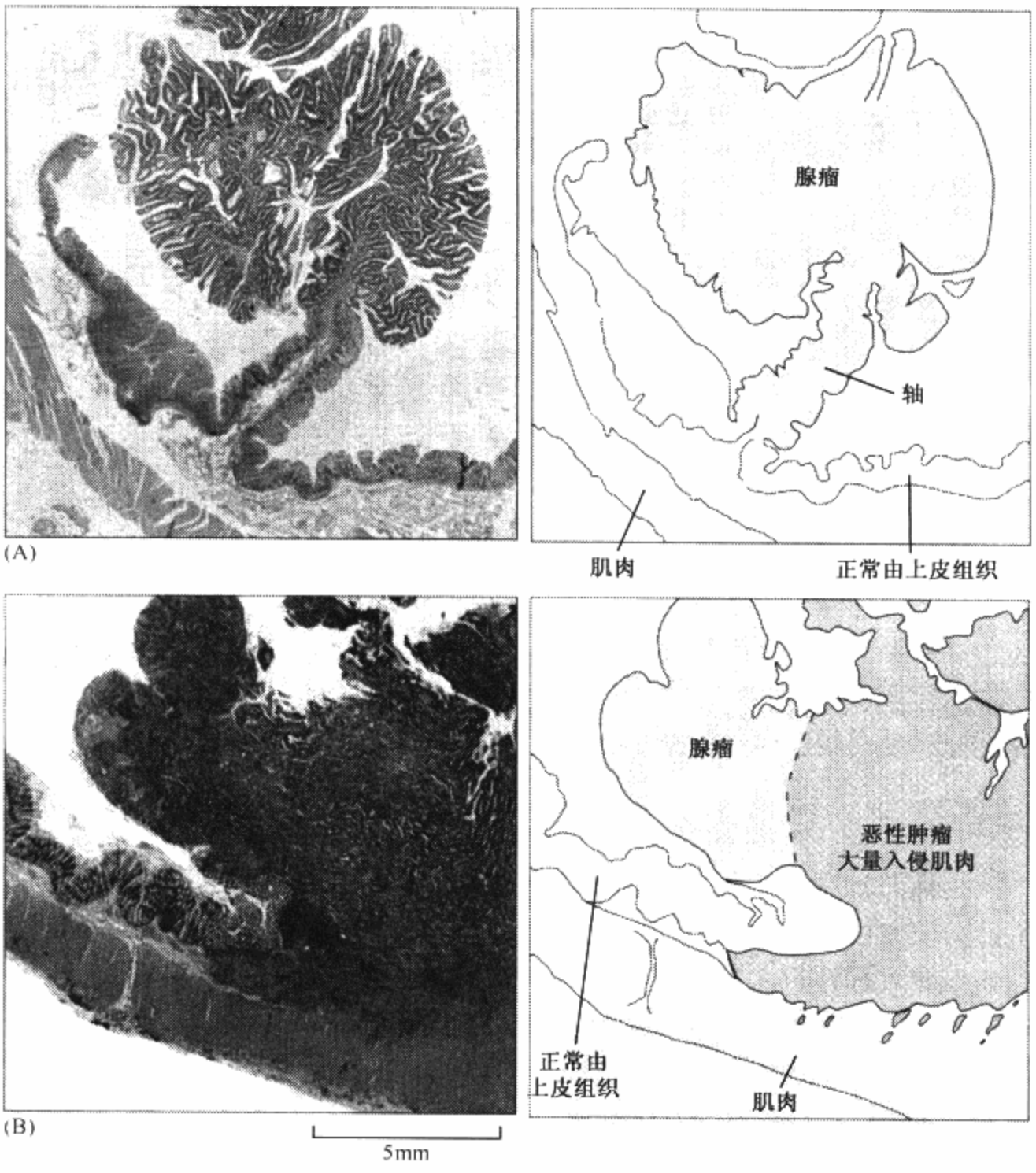


图 23-38　显示一个典型结肠癌的发育阶段的横切面图

（A）结肠的腺瘤性息肉。息肉凸出入腔——结肠内部的空间。结肠壁其余部分覆盖有正常结肠上皮细胞；息肉上的上皮细胞出现中度异常。（B）开始侵入下面肌肉层的上皮癌。该区域的高倍放大图如图 23-16 所示，显示正在肌细胞之间生长的肿瘤细胞（经 Paul Edwards 许可）

大多数结肠直肠癌病例的共同点是都有几个关键的遗传损伤

随时间而积累并产生这一连串事件的突变是什么？到目前为止发现的与结肠直肠癌有关的那些基因中，有三个基因突变非常频繁，即 *K-Ras*（*Ras* 基因家族的一个成员）、*p53* 和下面将要讨论的 *APC*（表 23-3）。其他基因与小部分结肠癌有关。还有一些关键基因仍有待鉴定。

表 23-3　在结肠直肠癌细胞中探测到的一些遗传异常

基因	种类	受影响的途径	有突变的肿瘤/%
K-Ras	癌基因	受体酪氨酸激酶信号通路	40
β-连环蛋白基因	癌基因	Wnt 信号通路	5～10
p53	肿瘤抑制基因	应激/遗传损伤反应	60
APC	肿瘤抑制基因	Wnt 信号通路	＞60
Smad4	肿瘤抑制基因	TGFβ 信号通路	30
TGFβ 受体Ⅱ 基因	肿瘤抑制基因	TGFβ 信号通路	10
MLH1 和其他 DNA 错配修复基因	肿瘤抑制基因	DNA 错配修复	15（常常被甲基化沉默）

发现与结肠直肠癌有关的突变的一个方法是，筛选细胞中的已知或怀疑与其他癌症有关的基因的异常。通过这类遗传筛选发现，约 40％繁荣结肠直肠癌在 *K-Ras* 基因中有特异性点突变，并将它激活为癌基因，约 60％有失活突变或缺失 *p53* 基因。

发现癌症关键基因的另一个方法是在那些对结肠直肠癌表现出遗传因素的罕见家族中跟踪遗传缺陷。第一个被阐明的遗传性结肠直肠癌综合征是一种被称为家族性腺瘤性息肉病（FAP）的病理状况，在这种状况下，数百个或数千个息肉沿着结肠发育（图 23-39）。这些息肉在成人早期出现，如果不切除，那么它们中一个或更多个几乎不可避免的将会发展成恶性肿瘤；从首次发现息肉到诊断出癌症平均需要 12 年。这种疾病可以追踪到位于 5 号染色体长臂上的 *APC* 基因的缺失或失活。患有 FAP 的个体，其体内所有细胞都有 *APC* 基因的失活突变或缺失。在所有没有遗传因素而患有结肠直肠癌的患者（该病绝大多数病例都有遗传因素），60％以上的患者在其癌细胞中都有类似的突变，而在其他组织中却没有；换句话说，在其一生中丢失了 *APC* 基因的两个拷贝。因此，通过一条我们在视网膜母细胞瘤中讨论过的路线，*APC* 基因的突变被鉴定为结肠直肠癌的重要要素之一。

如先前所解释的一样，通过搜寻肿瘤细胞中的遗传缺陷，甚至在没有已知的遗传综合征的情况下，肿瘤抑制基因也可以被跟踪。很多结肠直肠癌的系统扫

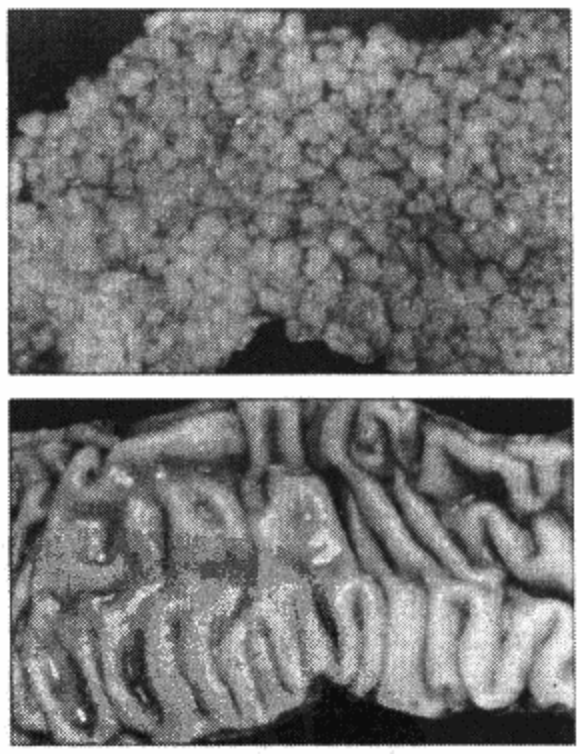


图 23-39　家族性腺瘤型息肉病患者的结肠和正常结肠的比较

（A）息肉性结肠完全被数百个突出息肉［切片显示如图 23-38（A）］所覆盖，肉眼观察发现，每个息肉类似于一颗细小的花椰菜。（B）正常结肠壁是一个轻微波动而平滑的表面（经 Andrew Wyllie 和 Mark Arends 许可）。

描显示某些染色体的大片段的频繁丢失，说明那些区域可能包含有肿瘤抑制基因。其中一个区域包含 *APC* 基因。另一个区域包含 *SMAD4* 基因，该基因在大概 30%的结肠癌中有突变。人们认为，至少还有另外一个重要的肿瘤抑制基因位于第 18 号染色体上 *SMAD4* 基因附近，不过还有待鉴定。其他染色体的特定区域在直肠癌中也表现出频繁丢失或获得，现在正在这些区域寻找其他癌症关键基因。

随着我们对基因及其功能的知识的扩展，另一种有效方法是寻找与已知的癌症关键基因相互作用的基因，希望这些基因也可能是突变的对象。现在知道，APC 蛋白是 Wnt 信号传导途径中的一个抑制性成分（讨论见第 15 章）。它发挥作用的方式是，与该途径中的另一组分 β-连环蛋白结合，从而阻止 TCF4（当 β-连环蛋白与之结合时刺激结肠上皮生长的一个基因调控蛋白）的激活。正如我们在第 22 章中见到的，TCF4 的丢失引起消化道干细胞群的衰竭，结果拮抗物 APC 的丧失可能由于对立效应致使生长过度。对一组结肠直肠肿瘤的 β-连环蛋白基因测序的结果是，在少数几个没有 *APC* 基因突变的肿瘤中，多数 β-连环蛋白有激活突变。因此，对癌症起关键作用的是 Wnt 信号通路，而不是它所含有的任何单一癌基因或肿瘤抑制基因。

DNA 错配修复的缺陷是患结肠直肠癌的另一途径

除了与 *APC* 基因突变有关的遗传性疾病之外，还有一类实际上更常见的针对结肠癌的遗传因素，其过程明显不同于我们已经描述的适合于 FAP 的过程。在患有遗传性非息肉性结肠直肠癌或 HNPCC 的患者中，结肠癌的可能性增加，但结肠直肠息肉（腺瘤）的数目没有任何增加。而且，在这种肿瘤中，癌细胞是罕见的，因为它们的染色体镜检发现其核型和染色体数目是正常的（或几乎是正常的）。相反，在非 HNPCC 患者中，绝大多数结肠直肠癌有大范围染色体异常：多重易位、缺失和其他畸变。总计有 55 条到 70 条染色体，而不是正常的 46 条染色体（图 23-40）。

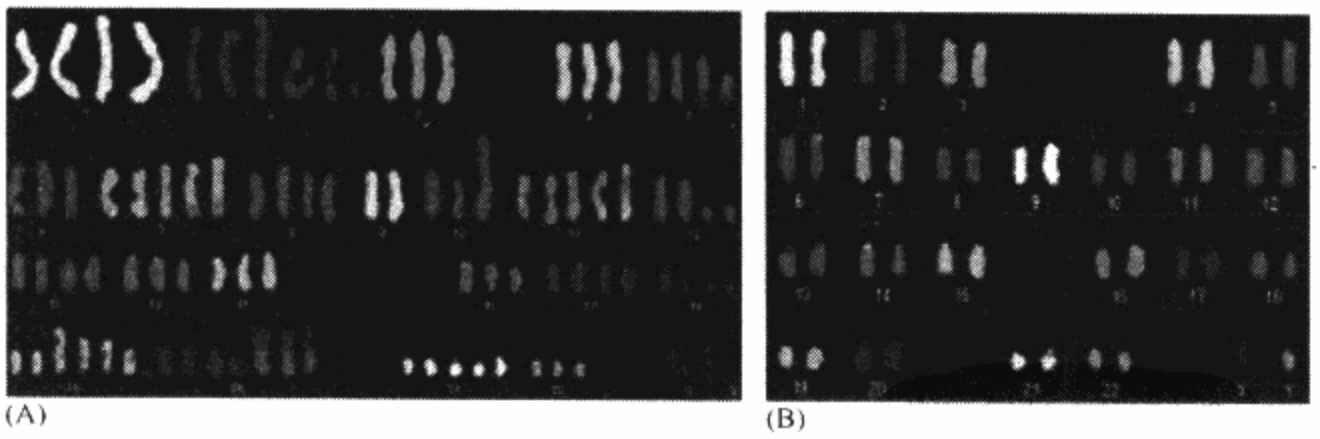


图 23-40　显示不同类型遗传不稳定性的结肠癌染色体组（核型）

（A）一个典型癌瘤的核型显示染色体数目和结构的许多肉眼可见的异常。（B）有一套稳定的染色体组和少数染色体畸变的肿瘤的核型。其缺陷基本不可见，是通过 DNA 错配修复而产生的。图中所有染色体的染色与图 23-12 相同，每个正常染色体的 DNA 用荧光染料的不同组合进行染色（经 Wael Abdel-Rahman 和 Paul Edwards 许可）

使 HNPCC 个体易患结肠直肠癌的突变发生于为人 DNA 错配修复系统核心组分编码的数个基因之一，这些基因在结构与功能上与细菌和酵母中的 *mutL* 和 *mutS* 基因同源（图 5-23）。相关基因的两个拷贝仅有一个由缺陷，所以必然发生的 DNA 复制错误在大多数患者细胞中都被有效清除。然而，正如先前讨论其他肿瘤抑制基因一样，这些个体处于患病危险之

中，因为余下的优良基因拷贝的偶尔丢失或改变马上就会将自发突变率提高 100 倍或更多（讨论见第 5 章）。推测这些遗传不稳定细胞会加速通过突变和自然选择的标准过程，允许细胞克隆发展成恶性肿瘤。

这种遗传不稳定性在染色体上产生不可见的改变——最显著的改变发生在个别核苷酸以及单核苷酸重复和双核苷酸重复，如 AAAA... 或 CACACA... 的增加和减少。认识到这种现象后发现，没有遗传突变的正常人所患结肠直肠癌约 15%含有错误修复基因的突变。而且，这些癌瘤中的染色体几乎没有近乎正常的核型。

因此，遗传不稳定性实际上存在于所有结肠直肠癌中，它可通过至少两条很不相同的途径而获得。大多数结肠直肠癌通过染色体重排而变得不稳定——一些也许是 *p53* 基因突变和端粒缩短的综合结果，如前面所讨论的。其他的则能避免此类损伤；它们的遗传不稳定性发生的规模要小得多，是通过 DNA 错配修复缺陷而引起。许多上皮癌或者表现出染色体不稳定性，或者表现出错配修复缺陷（但很少两者兼具）这一事实清楚地表明，遗传不稳定性不是恶性行为的偶然副产品，而是一个重要的原因；它是大多数癌细胞为恶化所需的一个特性，并且能通过几种可供选择的方式而获得。

进行性肿瘤的每一步可能都与特异突变相关

K-Ras、*p53*、*APC* 和其他已鉴定的结肠直肠癌基因的什么序列发生突变，它们分别对癌细胞最终的失控行为起什么作用？这些问题的答案不可能简单，因为结肠直肠癌能通过两条以上的途径产生。因此，正如我们所见到的，在一些情况下，导致产生癌症的首次突变可能发生在一个 DNA 错配修复基因上；在另外一些情况下，它可能发生在调控生长的基因上。一般特征，如遗传不稳定性，可能通过不同基因的突变以许多种方式产生。

然而，某些事件模式尤其常见。因此，在大多数情况下，失活 *APC* 基因的突变似乎是第一步，或者至少是很早的一步。它们在和大的恶性肿瘤一样高的发生频率的小型良性息肉中可以检测到。与细胞消亡率相比，*APC* 基因的丢失似乎增加结肠上皮中的细胞增殖率，但并不影响细胞分化途径或它们所形成的组织学类型的细目。

激活 *K-Ras* 基因（*Ras* 基因家族的一个成员）的突变似乎比激活 *APC* 基因的突变发生得要晚些；它们在小息肉中罕见，但常见于较大一些的、出现细胞分化和组织学类型紊乱的息肉中。当含有这种 *Ras* 基因突变的恶性结肠直肠癌细胞在培养基中生长时，它们表现出转化细胞的典型特征，例如，即使没有附着在培养基上也能进行增殖的能力。第 18 号染色体上癌症关键基因的丢失和 *p53* 基因中的突变可能会出现得更晚些。它们在息肉中罕见，但在上皮癌中常见，提示它们可能常常晚发生（图 23-41）。正如早先所讨论的，认为 *p53* 基因功能

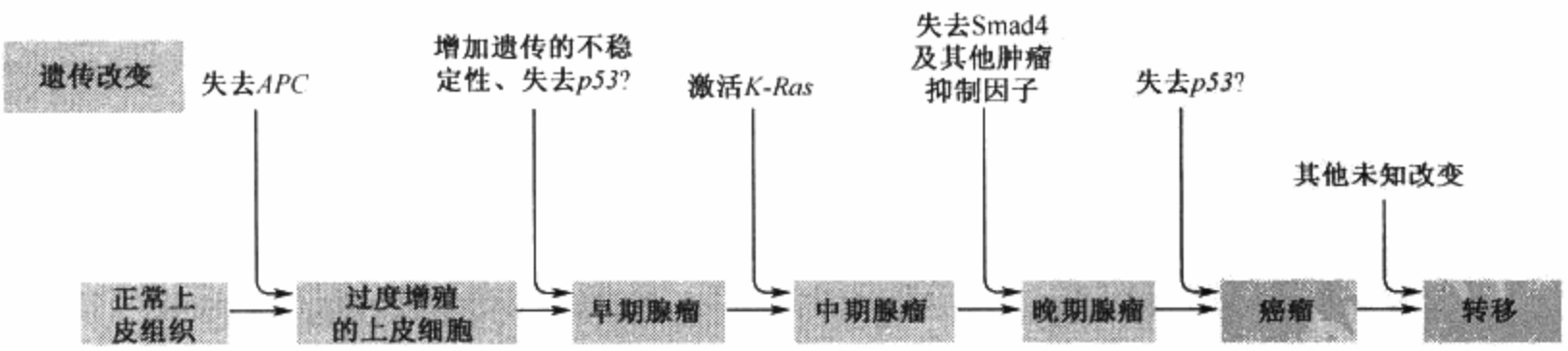


图 23-41　成为结肠直肠癌发生原因的遗传改变的典型顺序

这一过于简单的图解提供了一个突变和肿瘤相结合的方式的一般观念。但是肯定还有我们不知道的其他突变基因，不同的结肠癌可通过不同的突变顺序而发展。关于 *p53* 突变的时间以及与其他突变有关的遗传不稳定性的开始时间仍有争议

的丢失不但允许异常细胞避免细胞凋亡和分裂，而且允许快速地积累额外突变（在不合适的情况下通过细胞周期），产生许多异常染色体。

每例癌症都有一组特异的遗传损伤

正如我们刚才在结肠直肠癌中所见，癌症的传统分类过于简单：经过仔细检查发现，肿瘤传统分类中的单一一个类型将是一组异质性的病症，具有某些相同特性，但是每类本身都有一组特征性遗传损伤（图 23-42）。已分析的许多类型的癌症病例在遗传上表现出各种遗传损伤和多种变异。例如，以小细胞肺癌形式存在的肺癌，不仅在 *Ras*、*p53* 和 *APC* 基因中发现突变，而且还在 *Rb* 基因中、*Myc* 基因家族的成员（以 *Myc* 基因拷贝数目扩增的形式存在）中以及在至少另外 5 个已知的原癌基因和肿瘤抑制基因中也发现突变。在不同患者中有不同的突变组合，相应于对治疗做出不同反应的癌症。

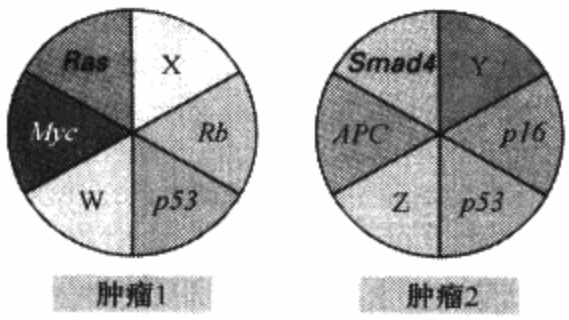


图 23-42　每个肿瘤通常含有一套不同的遗传损伤

在这一示意图中，W、X、Y 和 Z 表示迄今还未发现的肿瘤抑制基因或癌基因中的变更。通常，与相似起源的肿瘤的遗传异常相比，产生于不同组织的肿瘤的遗传异常其差异更大

原则上，分子生物学提供了精确发现哪些基因被扩增、哪些基因被删除以及在任何一个特定患者的肿瘤细胞中哪些基因被突变的工具。我们将会在下一节看到，这种信息对诊断和治疗癌症的意义与对鉴定传染病患者中的微生物的意义是同样重要的。

小结

研究发育中的胚胎和转基因小鼠有助于揭示许多癌症关键基因的功能。在癌症中发现有突变的大部分基因，无论是癌基因还是肿瘤抑制基因，都编码调节体内细胞社会性行为和增殖行为的途径中的组分——特别是在邻近细胞释放的信号促使其分裂、分化或死亡的机制中的组分。其他癌症关键基因与维持基因组的完整性和避免损伤有关。然而，允许癌症转移（从母瘤中逃离出来并在异源组织中生长）的分子变化仍然知之甚少。

DNA 病毒，如乳头瘤病毒，可通过隔离肿瘤抑制基因的产物促进癌症形成——尤其是 Rb 蛋白（调节细胞分裂）和 p53 蛋白（认为它对遭受遗传损伤细胞的分裂起紧急制动器的作用，在端粒缩短的衰老细胞中使细胞分裂停止）。

p53 蛋白有双层作用，调节细胞周期的进行和细胞凋亡的起始。因此，p53 蛋白的丢失或失活（在所有人类癌症中约有一半发生）具有双层危险：它允许遗传上受损的细胞和衰老细胞继续复制其 DNA，增加损伤，并允许它们逃脱细胞凋亡。p53 蛋白功能的丧失可能促成了许多成熟的转移癌的遗传不稳定性。

一般来说，进行性肿瘤的每个步骤都可能与激活特异癌基因和失活特异肿瘤抑制基因的突变有关。但是，不同的癌症形式，甚至名义上有相同疾病形式的患者，发现有不同的突变组合。然而，经常会遇到许多相同类型的遗传损伤，说明我们对癌症的防御能被攻破的途径有限。

癌症治疗：现在与未来

我们怎样才能将我们对癌症生物学渐增的理解用于同疾病做斗争呢？预防始终优于治疗。正如我们已在本章第一部分所讨论的，许多癌症实际上是可以预防的——首要的是避免使用烟草，这是一种到目前为止比任何已知致癌物更重要的危险物，是我们工业化社会的一种副产品。而且，癌症常常通过筛选而被扼杀在摇篮里：原发性肿瘤可以被及早发现，并在它们转移之前被切除，正如我们在宫颈癌中所见到的。还有许多用于预防和筛选的更好机会，一些运用了新的、高灵敏的分子测定法。这些领域的进展最有可能大大降低癌症死亡率。但是，预防和筛选绝不可能是完全有效的。可以肯定的是，在接下来的许多年里，成熟的恶性病仍将是需要治疗的常见病。

寻找癌症疗法是困难的，但并非没有希望

治疗癌症的困难类似于除草。癌细胞可通过外科手术移除或者用有毒化学药物或射线来消灭；但是，要清除掉每一个癌细胞是困难的。手术很少能切除所有转移灶，杀死癌细胞的疗法一般对正常细胞同样有毒。即使只有数个癌细胞存留下来，它们也能增殖，使疾病再次出现。与正常细胞不同，它们常常产生对所用毒物的抗药性。虽然有这些困难，但是使用抗癌药物（单独使用或与其他疗法配合使用）治疗以前一些高死亡率癌症（著名的何杰金（氏）淋巴瘤、睾丸癌、绒毛膜癌以及一些非白血性白血病和其他儿童期癌症）的有效疗法已经找到。甚至对一些目前似乎无法治疗的癌症类型，也有延长寿命或者至少可以减轻痛苦的疗法。但是，还有希望做得更好并找到治疗最常见类型癌症的方法吗？

当前疗法利用细胞周期控制的丧失和癌细胞的遗传不稳定性

抗癌疗法必须利用区别于正常细胞的癌细胞的某些特性。其中一个特性是因染色体维护或 DNA 修复机制的丢失引起的遗传不稳定性。值得注意的是，似乎大多数现有的癌症疗法都起作用，因为它们利用了这些分子缺陷，但这并不为开发这些方法的人所知晓。传统的抗癌疗法主要依赖于损伤 DNA 和维持染色体完整性的装置的药剂——药物和离子辐射。这些疗法优先杀特定类型的癌细胞，因为这些突变体从这种损害中幸存下来的能力降低。例如，当用射线处理时，正常细胞的 DNA 将遭受损害，并且在被修复之前，其细胞周期停止运转（图 23-43）。另一方面，在多个细胞周期检验点有缺陷的肿瘤细胞丧失了在这些环境中阻止细胞周期运行的能力，因此在辐射后立即继续增殖。当这些细胞企图在有缺陷性染色体的情况下进行分裂时，由于它们承受着灾难性 DNA 损伤，因此几乎都将在几天后死亡。

癌症能产生对治疗的抗性

不幸的是，尽管癌细胞中的一些分子缺陷可能提高它们对这种细胞毒素剂的敏感性，但是其他一些分子缺陷可能增加它们的抗药性。例如，许多由 DNA 损伤诱导的细胞死亡是通过细胞凋亡而发生的，因此，细胞死亡程序有缺陷的癌细胞有时能避开细胞毒疗法的作用。癌细胞对辐射和不同种类的细胞毒类药物的反应变化很大，很可能这种差异反映了它们在 DNA 修复、细胞周期检验点和细胞凋亡途径等方面的特殊缺陷类型。

遗传不稳定性本身可能有利于也可能不利于抗癌疗法。尽管许多传统疗法利用了遗传不稳定性的一个致命弱点，但是遗传不稳定性也使得癌症的根除更加困难。因为许多癌细胞有

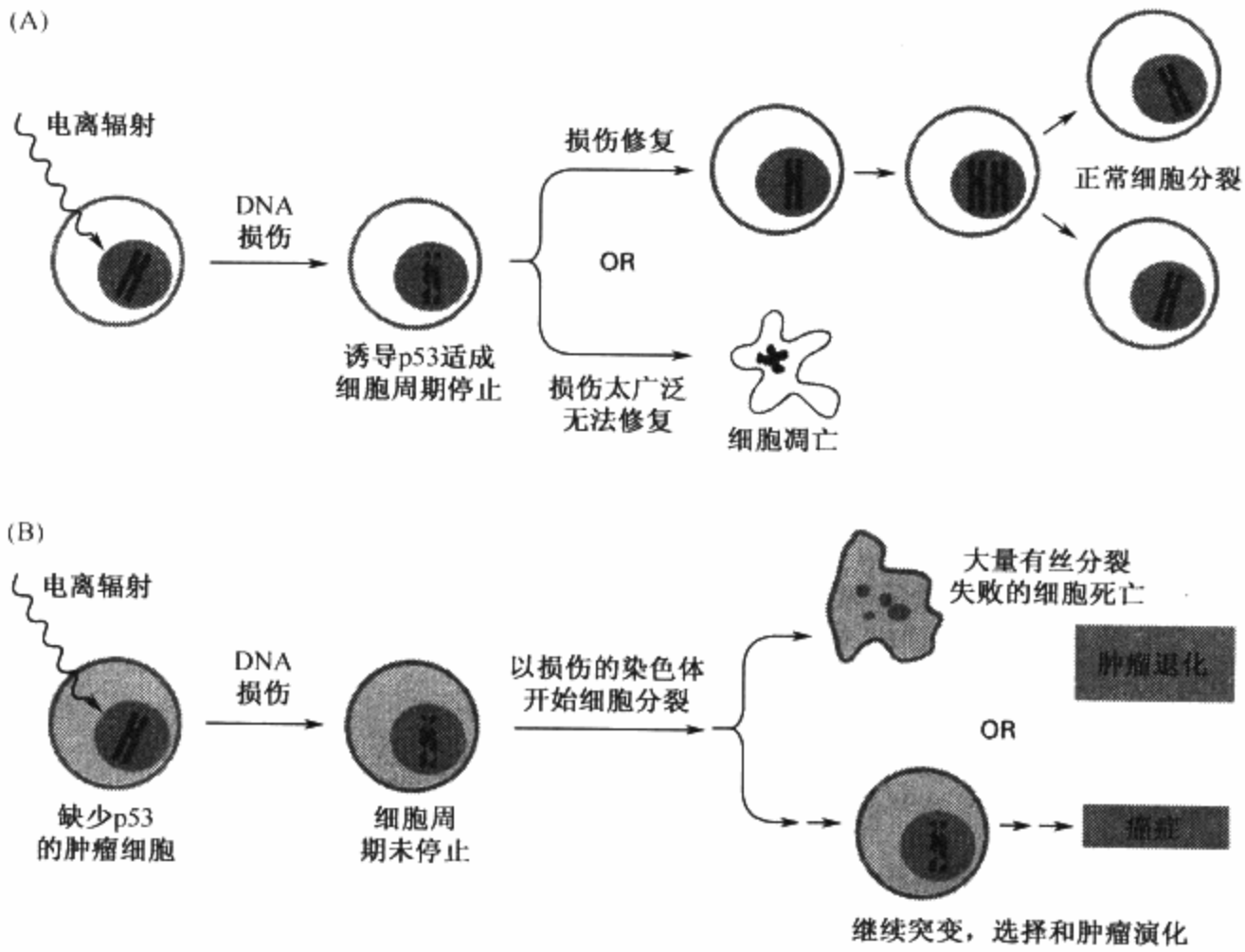


图 23-43　电离辐射对正常细胞（A）和癌细胞（B）的影响

癌细胞比正常细胞更易受到电离辐射的损伤效应，因为它们缺乏阻止细胞周期运行和进行必要修复的能力。不幸的是，相同的遗传缺陷可能是一些癌症对放射治疗产生抗性，因为它们在面临 DNA 损伤时，可能更不善于激活细胞凋亡很高的可突变性，所以大多数恶性肿瘤细胞群体在许多方面都是异质的，这使得它们难以用单一一种疗法来治疗。而且，这种可突变性使得许多癌症以惊人的速度产生对治疗性药物的抗性。

更糟糕的是，暴露于一种抗癌药物的细胞通常不仅会产生对那种药物的抗性，还会产生对其他从未接触过的药物的抗性。这种多向性抗药现象常常与含有 *Mdr1* 基因的那部分基因组的扩增有关。该基因编码质膜上的一个转运装置 ATPase（属于在第 11 章中讨论过的 ABC 运载体超家族）。该蛋白质或同一家族的其他一些成员的超量生产能阻止某些脂类药品在胞内的积累（通过将它们泵出胞外）。其他类型基因的扩增同样也能给癌细胞以选择优势。因此，编码二氢叶酸还原酶（DHFR）的基因的扩增常常是为了响应使用叶酸拮抗剂氨甲蝶呤的癌症化疗。

新疗法可能会出自我们的癌症生物学知识

由于我们对癌症细胞生物学和进行性肿瘤的理解的提高，现正逐渐形成治疗这种疾病的更好方法，而不仅仅是将细胞周期停滞和 DNA 修复过程的缺陷作为治疗的靶目标。例如，雌激素（如三苯氧胺）和阻断雌激素合成的药物现正在患者中广泛使用，用于阻止或延缓乳腺癌的复发（它们甚至被用于阻止新癌症的产生）。这种抗雌激素化合物并不直接杀光肿瘤细胞。虽然如此，但是它们会增加患者存活的希望，可能是因为雌激素是正常乳房上皮细胞的生长所必需的，而且一部分乳腺癌具有这种激素依赖性。然而，最大的希望在于，找到更加强大、更具选择性的途径直接根除癌细胞。既然我们能精确地找到遗传损伤，那么我们能利

用我们的细胞生物学知识来杀光它们吗？近年来，提出了许多攻击肿瘤细胞的、大胆的新途径，并发现其中许多途径可在模式系统中起作用——通常是降低或阻止小鼠体内肿瘤的生长。在这些方案中，许多方案被证明都没有医用价值，因为它们或者在人体中不起作用，或者有副作用，或者太难实现。但是，有一些似乎有成功的希望。例如，一些肿瘤细胞过于依赖它们超量产生的一种特殊蛋白质（尽管可能不是唯一的）。如果不会过度地损伤正常组织，那么阻断这种蛋白质的活性可能是治疗癌症的一条有效途径。例如，约 25%的乳腺癌表达极高水平的 Her2 蛋白——一种与 EGF 受体有关的受体酪氨酸激酶，正常情况下在乳房上皮细胞的发育中起作用。因此，关闭 Her2 的功能可能有望使人乳腺癌的生长减缓或停止；实际上，这是目前临床试验中经测试取得某些成功的一种方法，它是将识别 Her2 的单克隆抗体用作阻断剂。

消灭肿瘤的另一种方法是以有毒化合物直接传递给癌细胞为目标，这种方法利用像 Her2 那样的细胞表面丰富的蛋白质。针对这些蛋白质的抗体可和毒素结合，或者结合一种将无害的“前体药物”切成有毒分子的酶。在后一种情况下，一个酶分子能产生大量的毒素分子。这种策略的优点是，即使抗体并不直接结合上去，酶解产生的毒药也可以扩散至邻近的肿瘤细胞，结果增加了杀死肿瘤细胞的概率。

可将治疗设计成攻击缺乏 p53 的细胞

这些疗法都将肿瘤细胞所具有的特性或分子作为攻击目标，但是如果它们缺乏这种分子又怎么办呢？以肿瘤细胞为目标的一条巧妙途径利用了 p53 蛋白的丢失。某些病毒，包括乳头瘤病毒和腺病毒，编码的蛋白质结合至宿主细胞的 p53 蛋白并使之失活（图 23-35）。这就使得这些病毒能避开 p53 介导的宿主细胞的防御，并在胞内不受约束地复制其自身基因组。作为其裂解生活方式的一部分，腺病毒在无防御细胞内持续复制，然后，当其数目足够多时就破裂而出，杀死细胞并感染邻近细胞。现已构建了一个缺乏编码 p53 阻断蛋白的基因的腺病毒；该缺陷性病毒只在 p53 蛋白已失活的细胞中复制——包括多种类型的癌细胞。如果将这种经过修饰的腺病毒注射入肿瘤，那么该病毒可能有望在缺乏 p53 蛋白的癌细胞中复制，并且只能杀死这种癌细胞，而正常细胞不受伤害。这种治疗策略正在进行临床试验。

肿瘤生长可通过切断癌细胞的血液供应而被阻断

另一个有希望消灭肿瘤的方法完全不以癌细胞为直接目标。因为肿瘤需要形成新血管以长至 1mm 以上的大小，所以阻断血管发生的疗法应该在许多不同类型的癌症中都阻断肿瘤的生长。正如在第 22 章中所讨论的，新血管的生长需要局部信号（生成血管的生长因子）原则上，这些分子的作用可被阻断。现在正在开展血管生成抑制剂的临床试验。处于新血管形成过程中的内皮细胞也表达特征性的细胞表面标志，这就提供了一条有望攻击这些细胞而不损害非癌组织中的现有血管的途径。

可以设计以特异癌基因蛋白为靶的小分子

上面概括的新疗法仍处于试验期。对其中大多数，仍是看它们在治疗人类癌症或在减缓其进程方面的效果如何；过去的经验告诫我们要谨慎。然而，最近一个引人注目的成功至少给了我们很大希望。

如我们早先所看到的，95%以上的慢性髓细胞性白血病患者与一种特殊的染色体易位有关，其核型呈现特征性的染色体异常——费城染色体（图 23-5）。这是染色体断裂以及在名为

Abl 和 *Bcr* 的两个特殊基因位点处重接的结果。这些基因的融合产生一个融合基因，编码一种嵌合蛋白，由 Bcr 的 N 端片段融合至 Abl 的 C 端部分融合而成（图 23-44）。Abl 是一种与细胞信号转导有关的蛋白酪氨酸激酶。Bcr 片段代替其正常的 N 端使之活性过强，结果它刺激含有这一融合基因的造血前驱细胞的不适当增殖，并抑制这些细胞通过细胞凋亡而死亡，而在正常情况下，许多造血前驱细胞都会通过细胞凋亡而死亡。过量的白细胞因此而形成，并被释放进入血流，产生白血病。

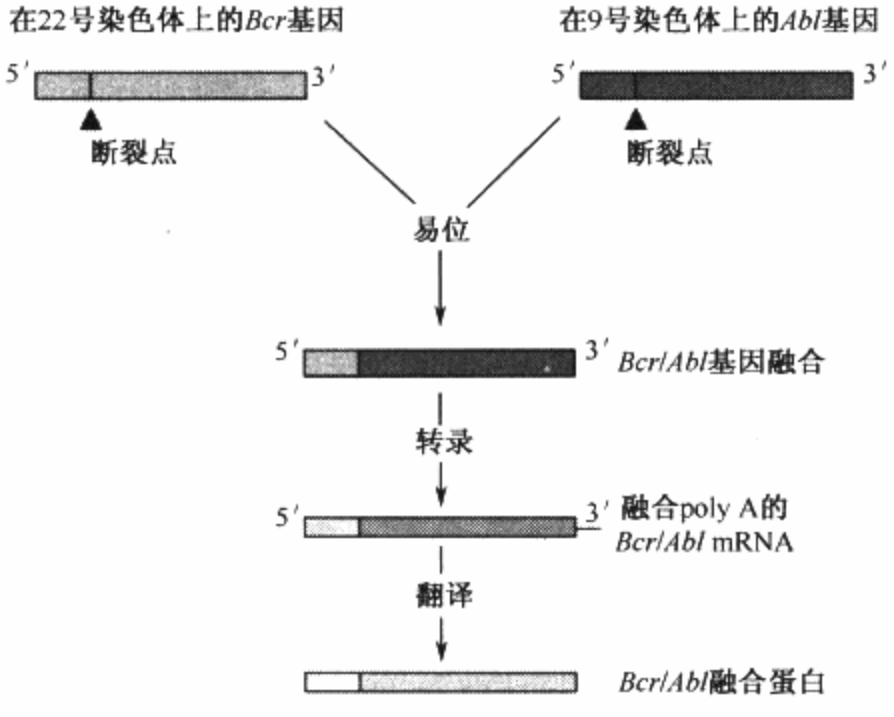


图 23-44　慢性髓细胞性白血病患者的 *Abl* 原癌基因转换成癌基因

染色体易位将 22 号染色体上的 *Bcr* 基因与来自 9 号染色体的 *Abl* 基因连接在一起，从而产生一条费城染色体（图 23-5）。由此而得到的融合蛋白是将 Bcr 蛋白的 N 端与 Abl 酪氨酸蛋白激酶的 C 端相连接；结果，Abl 激酶结构域处于不合适的活性状态，促使骨髓中造血细胞的克隆的过量增殖

Bcr-Abl 融合蛋白是治疗性攻击的一个明显的靶目标。寻找能抑制蛋白激酶活性的合成药物分子时，发现一个阻断 Bcr-Abl 的分子，称为 STI-571（图 23-45）。这一分子现在重命名为 Gleevec，当将其施药给患有慢性髓细胞性白血病且对其他疗法有抗药性的 54 个患者时，除一个患者之外，其他所有患者都表现出极好的反应性，且其白细胞计数都回归正常，在某些病例，明显根除了携带有费城染色体的细胞。经过一年的治疗后，其中 51 人健康状况仍然良好。由于进一步突变而已经进展到髓细胞性白血病急性期的患者，结果没有这么好，因为遗传不稳定性已经建立，疾病的进展要快得多。这些患者开始时有反应，接着又复发：癌细胞能产生对 Gleevec 的抗药性。然而，用 Gleevec 治疗处于该疾病慢性期（早期）的患者所取得的巨大成功足以证明如下原则：一旦我们精确理解在癌症中发生了什么遗传损伤，我们就能着手设计有效合理的治疗方法。

对细胞生物学的理解导致合理而简明的内科治疗

所有的医疗进步都依赖于准确诊断。如果一个人不能正确地辨别某个疾病，他就不能找到病因，不能预测其后果，不能选择治疗特定患者的合适疗法，也就不能进行患者群体试验以判断提议的疗法是否有效。癌症，如我们所见，是一组极具异质性的疾病。然而，新技术为精确、特异的诊断提供了工具。现在，我们有在分子水平上详尽地表征每一个肿瘤的手段。例如，通过用 DNA 芯片（讨论见第 8 章）分析组织中的 mRNA，数千个基因的表达水平可在同一个样本中同时测定，并与正常对照组织中的水平相比较。每个特定的癌症形式，如乳

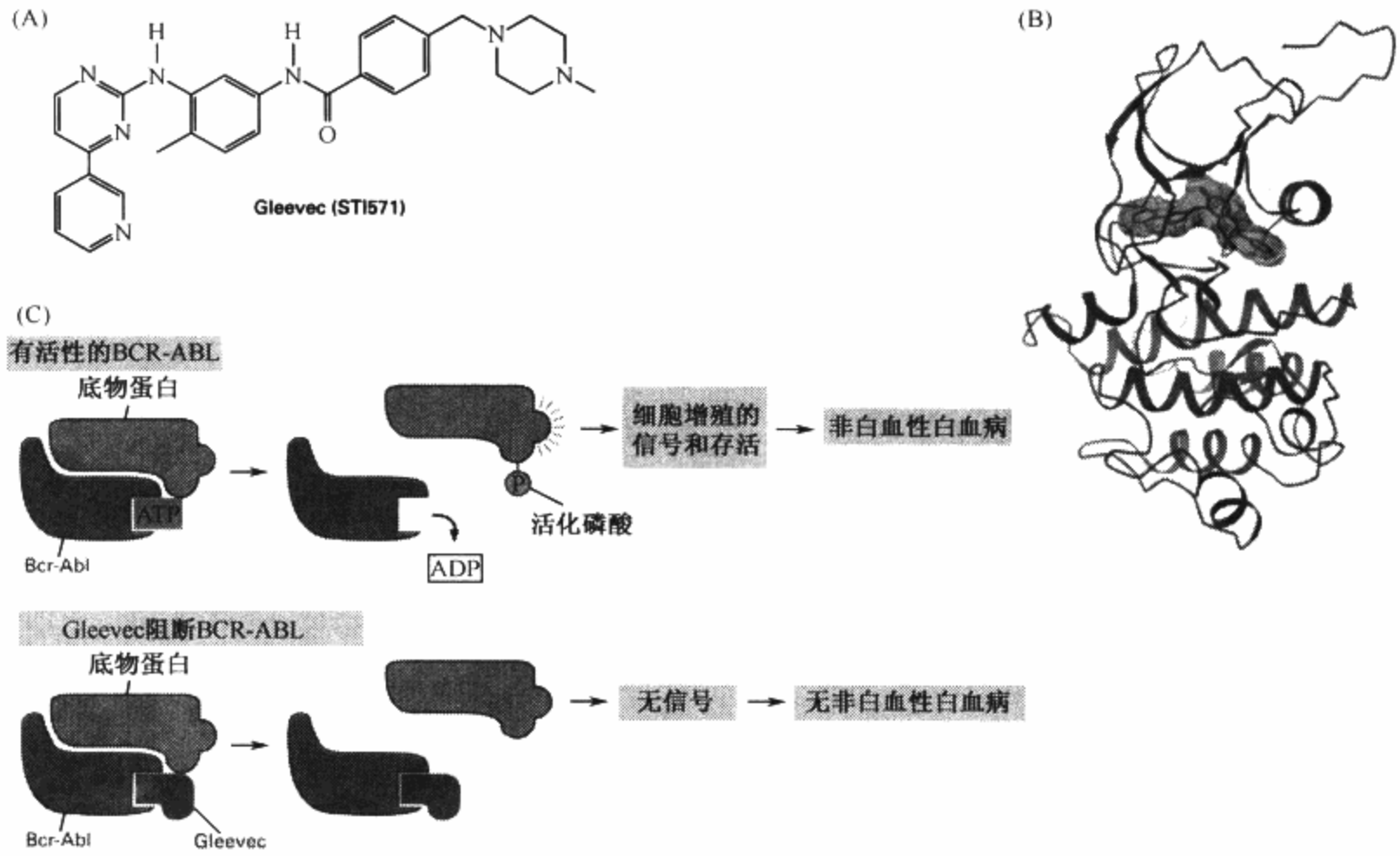


图 23-45　Gleevec（STI-571）阻断 Bcr-Abl 蛋白活性并使慢性髓细胞样白血病停止的方式

（A）Gleevec 的化学结构。该药物可口服，有副作用，但通常完全可以忍受。（B）Gleevec（绿色实心物）与 Abl 蛋白酪氨酸激酶结构域（带形图）的复合体的结构，用 X 射线衍射晶体分析法测定。（C）Gleevec 位于 Bcr-Abl 酪氨酸激酶结构域结合 ATP 的口袋处，因此阻止 Bcr-Abl 将 ATP 的磷酸集团转移给底物蛋白的酪氨酸残基。这阻止了细胞增殖和存活信号的向前传输（B 摘自 T. Schindler et al.，*Science* 289：1938～1942，2000. © AAAS）

腺癌，都有它自己的基因表达图，但是，当比较许多患者的表达图时，发现可将它们分成明显不同的几类，其成员具有共同的特征。不同类的基因表达图反映了不同组的癌基因突变的不同后果，与不同的预后和对治疗的不同反应相关。这些关联正开始被发现、被解释并被遵照执行。

随着我们对分子遗传机制理解的大大提高，我们能为每一肿瘤精确测定其 DNA 代谢中的缺陷［DNA 复制、DNA 重组、DNA 修复、染色体维护和（或）检验点控制的变更］大多数情况下，这很可能有助于细胞获得肿瘤生长和侵入所需的多种突变。这些缺陷会使肿瘤对作用于其 DNA 和 DNA 处理装置的特殊类型的攻击异常脆弱。特定肿瘤的细胞极易被辐射或暴露于损伤 DNA 的药物杀死，这一观察结果支持上述观点。通过精确设计比这些传统疗法更精确地利用特殊弱点的靶向药物，我们应能更有效的攻击癌细胞。通过这种方式，癌症的分子分析有希望使疗法更精确地适应患者而改变癌症治疗。

一连串癌症关键基因的发现表示在黑暗中摸索癌症分子基础的时代的结束。令人鼓舞的是，发现毕竟还有一些一般原则，而且许多疾病形式共有一些关键的遗传异常。但是，我们仍然远未充分了解最常见的人类癌症。我们知道许多癌症关键基因的 DNA 序列以及其中许多基因（数目一直在增加）的生理功能。精确设计靶向的合理治疗是可能的。但是，我们仍需要更好地了解相关分子怎样相互作用以控制细胞个体的行为，更好地了解组织中细胞的社会学，以及更好地了解通过突变和自然选择控制癌细胞发生和扩散的许多过程。

回顾细胞生物学的历史并仔细思考最近的进展速度，我们可能是有希望的。驱动基础研究的了解肯定会揭示许多出于人道主义目标而使用我们的细胞知识的新途径，不仅与癌症相关，还与传染病、精神疾病、农业以及我们几乎不能预见的其他领域有关。

小结

我们对癌症细胞生物学的了解的逐渐增加应该会使我们发现诊断和治疗疾病的更好途径。可以这样设计抗癌疗法，即利用它们区别于正常细胞的特性来优先消灭癌细胞，这些特性包括 DNA 修复机制的缺陷、细胞周期检验点的缺陷和细胞凋亡途径的缺陷。也可通过对血液供应的依赖来攻击肿瘤。通过了解正常调控机制以及它们在特定癌症中怎样被破坏，我们可能设计出更精确地将癌瘤视为靶目标的药物。当我们能更准确地确定在任何特定肿瘤的细胞中哪些基因被扩增、哪些基因被删除、哪些基因被突变时，我们就能开始使治疗更精确地适应于各个不同的患者。

参考文献

一般文献

Brugge J, Curran T, Harlow E & McCormick F (eds) (1991) Origins of Human Cancer. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Cairns J (1978) Cancer: Science and Society. San Francisco: WH Freeman.

De Vita VT, Hellman S & Rosenberg SA (eds) (2000) Cancer: Principles and Practice of Oncology, 6th edn. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins.

Greaves M (2000) Cancer: The Evolutionary Legacy. Oxford: Oxford University Press.

Cancer as a Microevolutionary Process

Cahill DP, Kinzler KW, Vogelstein B & Lengauer C (1999) Genetic instability and darwinian selection in tumours. *Trends Cell Biol.* 9, M57–M60.

Cairns J (1975) Mutation, selection and the natural history of cancer. *Nature* 255, 197–200.

Evan GI & Vousden KH (2001) Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 411, 342–348.

Fialkow PJ (1976) Clonal origin of human tumors. *Biochim. Biophys. Acta* 458, 283–321.

Hanahan D & Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57–70.

Kern SE (2001) Progressive genetic abnormalities in human neoplasia. In Molecular Basis of Cancer (J Mendelsohn, PM Howley, MA Israel, LA Liotta eds), 2nd edn, pp 41–70. Philadelphia: Saunders.

Klein G (1998) Foulds' dangerous idea revisited: the multistep development of tumors 40 years later. *Adv. Cancer Res.* 72, 1–23.

Nowell PC (1976) The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194, 23–28.

Ruoslahti E (1996) How cancer spreads. *Sci. Am.* 275(3), 72–77.

Solomon E, Borrow J & Goddard AD (1991) Chromosome aberrations and cancers. *Science* 254, 1153–1160.

Wright WE & Shay JW (2001) Cellular senescence as a tumor-protection mechanism: The essential role of counting. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11, 98–103.

The Preventable Causes of Cancer

Ames B, Durston WE, Yamasaki E & Lee FD (1973) Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 2281–2285.

Berenblum I (1954) A speculative review: the probable nature of promoting action and its significance in the understanding of the mechanism of carcinogenesis. *Cancer Res.* 14, 471–477.

Cairns J (1985) The treatment of diseases and the war against cancer. *Sci. Am.* 253(5), 51–59.

Doll R (1977) Strategy for detection of cancer hazards to man. *Nature* 265, 589–597.

Doll R & Peto R (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* 66, 1191–1308.

Hsu IC, Metcalf RA, Sun T et al. (1991) Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature* 350, 427–428.

Newton R, Beral V & Weiss RA (eds) (1999) Infections and Human Cancer. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Peto J (2001) Cancer epidemiology in the last century and the next decade. *Nature* 411, 390–395.

Finding the Cancer-Critical Genes

Hahn SA, Schutte M, Hoque AT et al. (1996) DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 271, 350–353.

Hilgers W & Kern SE (1999) Molecular genetic basis of pancreatic adenocarcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 26, 1–12.

Varmus H & Weinberg RA (1993) Genes and the Biology of Cancer. New York: Scientific American Library.

Vogelstein B & Kinzler KW (eds) (1998) The Genetic Basis of Human Cancer. New York: McGraw-Hill.

Wallrapp C, Muller-Pillasch F, Micha A et al. (1999) Strategies for the detection of disease genes in pancreatic cancer. *Ann. NY Acad. Sci.* 880, 122–146.

The Molecular Basis of Cancer Cell Behavior

Artandi SE & DePinho RA (2000) Mice without telomerase: what can they teach us about human cancer? *Nat. Med.* 6, 852–855.

Chambers AF, Naumov GN, Vantyghem S & Tuck AB (2000) Molecular biology of breast cancer metastasis: clinical implications of experimental studies on metastatic inefficiency. *Breast Cancer Res.* 2, 400–407.

Edwards PAW (1999) The impact of developmental biology on cancer research: an overview. *Cancer Metastasis Rev.* 18, 175–180.

Hanahan D & Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57–70.

Karran P (1996) Microsatellite instability and DNA mismatch repair in human cancer. *Semin. Cancer Biol.* 7, 15–24.

Kinzler KW & Vogelstein B (1996) Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87, 159–170.

Lowe SW & Lin AW (2000) Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 21, 485–495.

Macleod KF & Jacks T (1999) Insights into cancer from transgenic mouse models. *J. Pathol.* 187, 43–60.

McCormick F (1999) Signaling networks that cause cancer. *Trends Cell Biol.* 9, M53–56.

Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA & Liotta LA (eds) (2001) Molecular Basis of Cancer, 2nd edn. Philadelphia: Saunders.

Ridley A (2000) Molecular switches in metastasis. *Nature* 406, 466–467.

Vogelstein B, Lane DP & Levine AJ (2000) Surfing the p53 network. *Nature* 408, 307–310.

Weinberg RA (1995) The retinoblastoma protein and cell-cycle control. *Cell* 81, 323–330.

Cancer Treatment: Present and Future

Baselga J & Albanell J (2001) Mechanism of action of anti-HER2 monoclonal antibodies. *Ann. Oncol.* 12, S35–41.

Druker BJ & Lydon NB (2000) Lessons learned from the development of an abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J. Clin. Invest.* 105, 3–7.

Folkman J (1996) Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci. Am.* 275(3), 150–154.

Golub TR, Slonim DK, Tamayo P et al. (1999) Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 286, 531–537.

Hu Z & Garen A (2001) Targeting tissue factor on tumor vascular endothelial cells and tumor cells for immunotherapy in mouse models of prostatic cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 12180–12185.

Huang P & Oliff A (2001) Signaling pathways in apoptosis as potential targets for cancer therapy. *Trends Cell Biol.* 11, 343–348.

Kreitman RJ (1999) Immunotoxins in cancer therapy. *Curr. Opin. Immunol.* 11, 570–578.

Malpas J (1997) Chemotherapy. In Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer (LM Franks, NM Teich eds), 3rd edn, pp 343–352. Oxford: Oxford University Press.

McCormick F (2000) Interactions between adenovirus proteins and the p53 pathway: the development of ONYX-015. *Semin. Cancer Biol.* 10, 453–459.

Roninson IB, Abelson HT, Housman DE et al. (1984) Amplification of specific DNA sequences correlates with multi-drug resistance in Chinese hamster cells. *Nature* 309, 626–628.

Sidransky D (1997) Nucleic acid-based methods for the detection of cancer. *Science* 278, 1054–1059.

Waldman T, Khang Y, Dillehay L et al. (1997) Cell-cycle arrest versus cell death in cancer therapy. *Nat. Med.* 3, 1034–1036.

24　获得性免疫系统

淋巴细胞和获得性免疫的细胞基础
B 细胞和抗体
抗体多样性的产生
T 细胞和 MHC 蛋白
辅助 T 细胞和淋巴细胞的激活

我们的**获得性免疫系统**将我们从感染引起的某些死亡中营救出来。出生时获得性免疫系统有严重缺陷的婴儿不久将会死亡，除非采取非常措施将他与许许多多的传染性病原体，包括细菌、病毒、真菌和寄生虫隔离开。实际上，所有多细胞有机体都需要保护它们自己免受这些统称为**病原体（pathogen）**的潜在有害侵入物的感染。无脊椎动物利用相对简单的防御策略，这些策略主要依赖于保护屏障、毒素分子以及摄入和毁坏入侵的微生物和较大的寄生虫（如蠕虫）吞噬细胞。脊椎动物也依赖于这种**先天性免疫反应**作为第一道防线（讨论见第 25 章），但是它们还有高级得多的防御措施，称为**获得性免疫应答（adaptive immune response）**。天然免疫应答唤起获得性免疫应答发挥作用，两者合作清除病原体（图 24-1）。与天然免疫应答不同，获得性免疫应答对诱导其产生的特殊病原体具有高度特异性。它们也能提供长效保护。例如，从麻疹中恢复的患者，终生都受到获得性免疫系统的保护而免患麻疹，尽管对其他常见病毒没有保护作用，如引起腮腺炎或水痘的病毒。在本章中，我们主要集中于获得性免疫反应，术语免疫反应就是专指获得性免疫反应，除非我们另外指明。我们将在第 25 章详细讨论天然免疫反应。

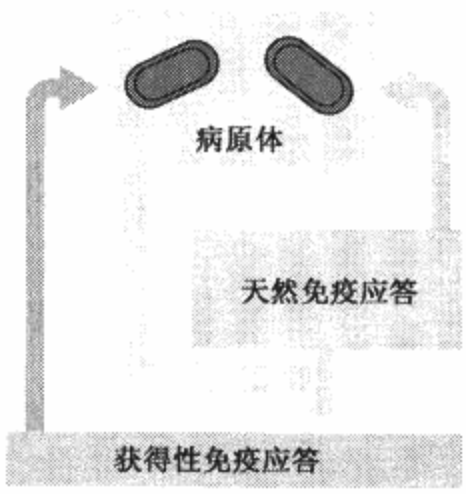


图 24-1　天然免疫应答和获得性免疫应答

天然免疫应答由病原体直接激活，使所有多细胞有机体防御感染。在脊椎动物中，病原体和它们激活的天然免疫应答一起刺激获得性免疫应答，然后帮助对抗感染

获得性免疫反应的功能是，破坏入侵病原体以及它们产生的任何毒素分子。因为这些反应是破坏性的，所以至关重要的是，它们只对宿主的异己分子起作用，而不对宿主本身的分子起作用。通过这种方式区别异己（foreign）和自己（self）的能力是获得性免疫系统的基本特征。偶尔，该系统不能做出这种区别，并与宿主自身的分子发生破坏性的反应。这种自身免疫性疾病（autoimmune disease）可能是致命的。

当然，进入体内的许多异己分子是无害的，建立针对这些分子的获得性免疫反应是没有意义的，并且具有潜在的危险性。过敏反应，如花粉症和哮喘，就是对显然无害的异己分子产生获得性免疫反应的有害例子。这种不合适的反应常常可以避免，因为只有当天然免疫反应识别被称为**病原体相关的免疫兴奋剂（pathogen-associated immunostimulant）**的入侵病原体的特征性分子时，才唤起获得性免疫应答发挥作用（讨论见第 25 章）。而且，天然免疫系统能区别不同类型的病原体，并招募最有效的获得性免疫反应形式来清除它们。

抗原（即抗体发生器）是指能诱导获得性免疫反应的任何物质。我们对这类反应的大多数知识都来自实验人员运用一些策略使实验动物（通常是小鼠）的获得性免疫系统对无害异己分子（如异己蛋白质）做出反应的研究。这些策略涉及，将无害分子和称为佐剂的免疫兴奋剂（通常来源于微生物）一起注射，因为佐剂会激活天然免疫系统。这一过程称为**免疫接种（immunization）**。如果用这种方式给药，几乎任何分子，只要对受体是异己的，都能诱导特异于该分子的获得性免疫反应。显然，获得性免疫能区别非常类似的抗原，例如，仅有一个氨基酸差异的两种蛋白质，或同一分子的两个旋光异构体。

获得性免疫应答由称之为**淋巴细胞（lymphocyte）**的白细胞执行。这些应答分为两大类——抗体应答（antibody response）和细胞介导的免疫应答（cell-mediated immune response），由两类不同的淋巴细胞执行，分别称为**B细胞**和**T细胞**。在**抗体应答**中，B细胞被激活以分泌抗体，这是一种称为免疫球蛋白的蛋白质分子。抗体在血流中循环并渗入其他体液，并在此特异结合刺激其产生的外来抗原（图 24-2）。抗体的结合封闭了病毒和微生物毒素（如破伤风毒素或白喉毒素）与宿主细胞上的受体相结合的能力，从而使之失活。抗体的结合也给侵入的病原体打上了毁灭标记，主要是通过使天然免疫系统的吞噬细胞易于摄取它们。

在**细胞介导的免疫应答**——第二类获得性免疫应答中，活化的T细胞与在宿主细胞的表面直接呈递给它们的外来抗原反应。例如，T细胞可能杀死病毒感染的宿主细胞（细胞表面有病毒抗原），因而在病毒有机会复制之前清除感染的细胞（图 24-2）。在其他情况下，T细胞产生信号分子，激活巨噬细胞，破坏它们吞噬的入侵微生物。

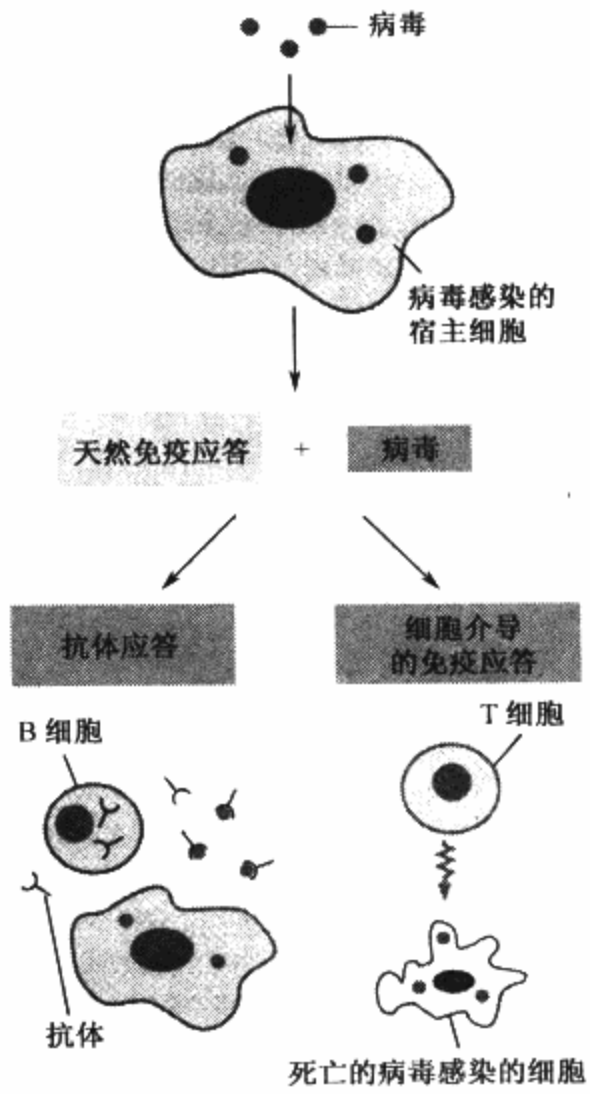


图 24-2　获得性免疫应答的两种主要类型

淋巴细胞执行两种类型的应答。此处，淋巴细胞正在应答病毒感染。在一种类型的应答中，B细胞分泌中和病毒的抗体。在另一种类型的应答中，T细胞杀死病毒感染的细胞

在本章，我们首先讨论淋巴细胞的一般特性，然后讨论抗体的功能和结构特征，这些特征使得抗体能够识别和中和胞外微生物及其产生的毒素。接着，我们讨论B细胞怎样产生数目巨大的不同抗体分子。最后，我们讨论T细胞及其介导的免疫应答的特性。显然，T细胞能探测到隐藏在宿主细胞内的微生物，或者杀死受感染的细胞，或者协助其他细胞清除微生物。

淋巴细胞和获得性免疫的细胞基础

淋巴细胞负责获得性免疫惊人的特异性。它们在血液、淋巴（将体内淋巴结之间及淋巴结与血流连接起来的淋巴管中的无色液体）以及**淋巴器官**，如胸腺、淋巴结、脾脏和阑尾中大量存在（图 24-3）。

在本节中，我们讨论适用于B细胞和T细胞的淋巴细胞的一般特性。我们将看到，每个

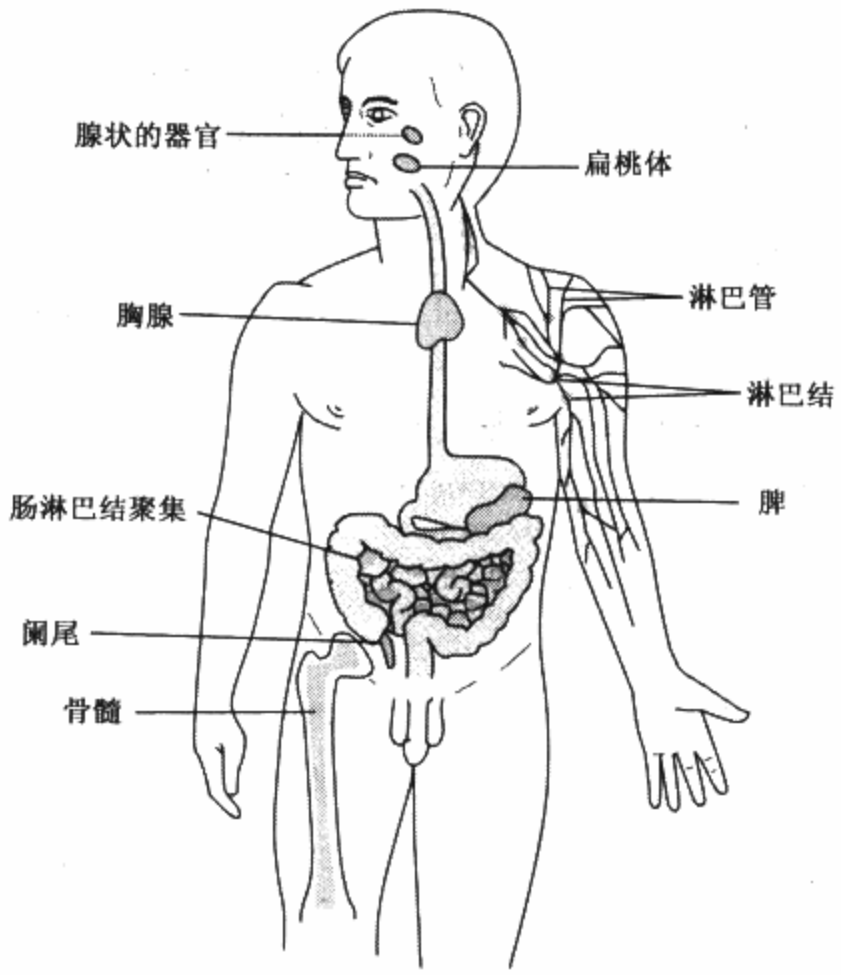


图 24-3　人的淋巴器官

淋巴细胞在胸腺和骨髓（黄色）中发育，它们因此而被称为中枢（或初级）淋巴器官。新形成的淋巴细胞从这些初级淋巴器官迁移至外周（或次级）淋巴器官（蓝色），淋巴细胞在此与外来抗原发生反应。图中仅显示了一些外周亮部器官和淋巴管；在皮肤和呼吸道中发现有许多淋巴细胞。后面我们将会讨论到，淋巴管最终连通血液（图中未显示）

淋巴细胞对一种特异抗原发生反应，并且它第一次遇到抗原时发生的反应确保以后遇到相同抗原时发生更快更有效的反应。我们讨论淋巴细胞怎样避免与自身抗原发生反应，怎样在血液和淋巴器官之间持续循环，从而确保特异性外来抗原无论在体内何处也能被淋巴细胞发现。

获得性免疫需要淋巴细胞

人体内约有 2×10^{12} 个淋巴细胞，使得免疫系统细胞群的大小与肝脏或脑相当。尽管它们大量存在，但是它们在获得性免疫中的重要作用直到 20 世纪 50 年代末才得以证实。关键实验是在小鼠和大鼠中进行的，它们接受重度辐射以杀死大多数白细胞，包括淋巴细胞。这种治疗使动物不能建立获得性免疫应答。然后，将各种不同类型的细胞转移至体内，使得确定哪些细胞可以逆转这种缺陷成为可能。只有淋巴细胞才能使受辐照动物的获得性免疫反应得以恢复，表明淋巴细胞是这些反应所需要的（图 24-4）。

天然免疫系统和获得性免疫系统一起发挥作用

前面提到，只要**天然免疫系统**首先被激活，淋巴细胞通常就会对外来抗原做出反应。如第 25 章中所讨论的，感染的天然免疫反应是迅速的。它们依赖于模式识别受体（pattern recognition receptor），这种受体识别宿主机体中并不存在的病原体相关分子（免疫兴奋剂）的类型，包括微生物的 DNA、脂质和多糖以及形成细菌鞭毛的蛋白质。一些受体呈现在职业吞噬细胞的表面，如巨噬细胞和中性粒细胞，这些细胞参与病原体的摄取，接着病原体被传递给溶酶体而被破坏。一些受体则被分泌并结合至病原体的表面，给它们做上被吞噬细胞或补

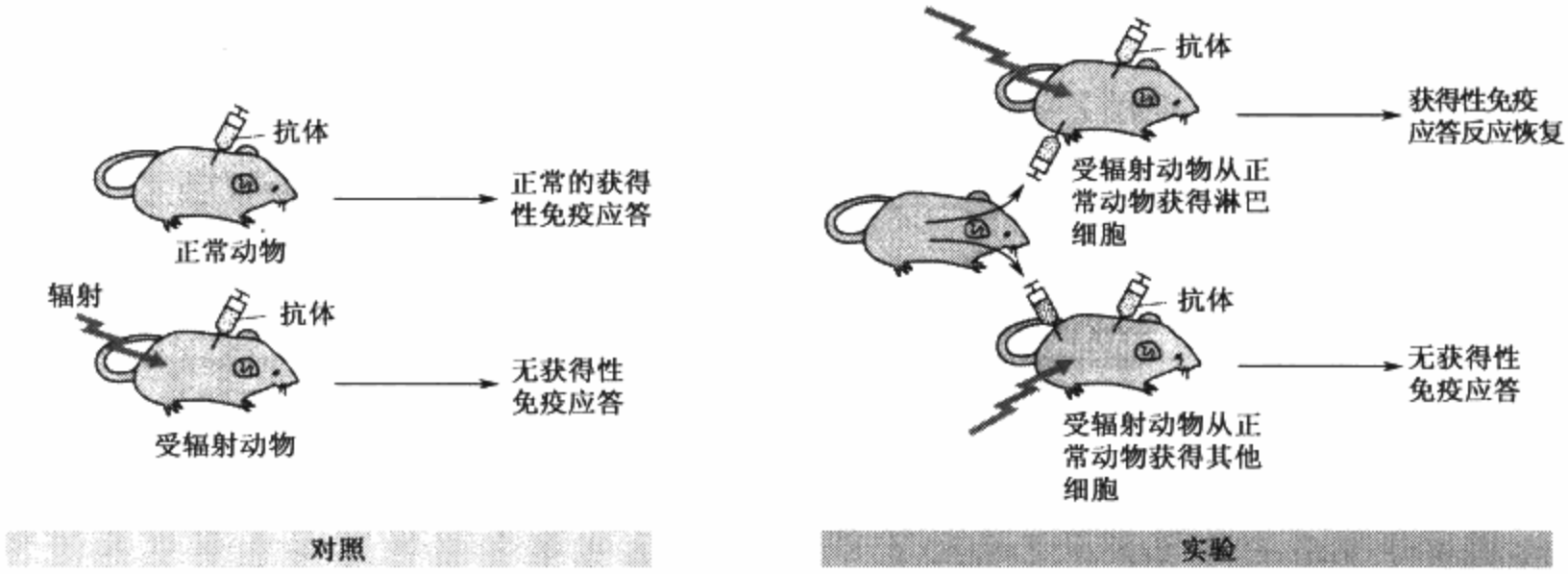


图 24-4　证明应答外来抗原的获得性免疫应答需要淋巴细胞的一个经典实验

所有这类细胞转移实验的一个重要要求是，细胞在相同近交系（inbred strain）动物之间转移。一个近交系的成员在遗传上是完全相同的。如果淋巴细胞被转移给一个遗传上不同的受辐照动物，它们就与宿主的“外来”抗原发生反应，并能杀死动物。在图中所示的实验中，注射淋巴细胞使抗体和细胞介导的获得性免疫应答得以恢复，说明淋巴细胞是这两种类型的应答所必需的

体系统破坏的标记。还有一些受体呈现在各种不同类型的宿主细胞表面，与病原体相关的免疫兴奋剂结合后，激活胞内信号通路；这导致促进炎症和协助激活获得性免疫反应的胞外信号分子的产生。

天然免疫系统的一些细胞直接将微生物抗原呈递给 T 细胞，启动获得性免疫反应。最有效的呈递细胞称为树突状细胞（dendritic cell），它存在于大多数脊椎动物组织中。它们在感

图 24-5　天然免疫应答帮助激活获得性免疫应答的一条途径

天然免疫系统的特化吞噬细胞，包括巨噬细胞和树突状细胞，摄入侵入的微生物或它们在感染部位的产物。树突状细胞然后成熟，并在淋巴管中迁移至邻近淋巴结，在此发挥抗原呈递细胞的作用。抗原呈递细胞激活 T 细胞，应答展示在呈递细胞表面的微生物抗原。抗原呈递细胞表面也有帮助激活 T 细胞的特殊蛋白质（称为共刺激分子）。一些活化的 T 细胞然后迁移至感染部位，帮助激活巨噬细胞或杀死被感染的细胞，从而帮助清除微生物。我们在后面将会讨论到，只有在树突状细胞因应答侵入的微生物而成熟后，共刺激分子才出现在其表面

染位点识别和吞噬侵入的微生物或其产物，然后迁移至附近的外周淋巴器官。它们在那儿发挥抗原呈递细胞（antigen-presenting cell）的作用，直接激活 T 细胞对微生物抗原做出反应。一旦被激活，一些 T 细胞就迁移至感染位点，帮助其他吞噬细胞，主要是巨噬细胞，破坏微生物（图 24-5）。其他被激活的 T 细胞仍留在淋巴器官，帮助 B 细胞对微生物抗原做出反应。激活的 B 细胞分泌抗体，这些抗体在体内循环并覆盖在微生物周围，使之成为有效的被吞噬目标。

因此，天然免疫反应主要在感染位点被激活，而获得性免疫反应在外周淋巴器官被激活。这两种类型的反应协同作用以清除入侵的病原体。

B 淋巴细胞在骨髓中发育；T 淋巴细胞在胸腺中发育

T 细胞和 B 细胞的名字来源于它们发育时所在的器官。T 细胞在胸腺（thymus）中发育，哺乳动物中的 B 细胞在成体骨髓或胎儿肝脏中发育。

尽管它们的起源不同，但是 T、B 细胞都是从相同的多能造血干细胞（pluripotent hemopoietic stem cell）发育而来，它们产生所有的血细胞，包括红细胞、白细胞和血小板。这些干细胞（讨论见第 22 章）最初位于造血组织中——主要是胎儿的肝脏和成体的骨髓。T 细胞的前体细胞经血液从造血组织迁移至胸腺，并在其中发育成 T 细胞。在大多数哺乳动物中，B 细胞是从造血组织本身的干细胞发育而来（图 24-6）。因为它们是淋巴细胞从前体细胞发育的位点，所以胸腺和造血组织**中枢淋巴器官（central lymphoid organ）**或**一级淋巴器官（primary lymphoid organ）**（图 24-3）。

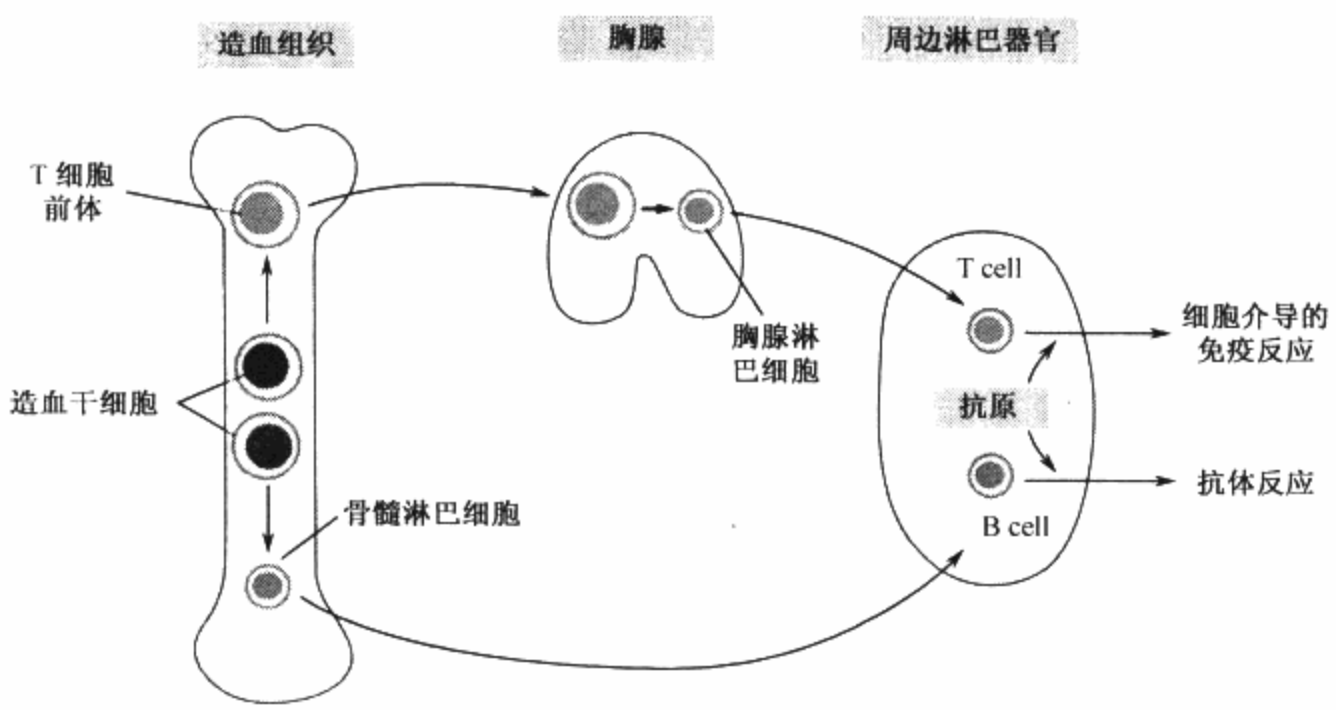


图 24-6　T 细胞和 B 细胞的发育和活化

中枢淋巴器官（淋巴细胞自前体细胞发育而来的场所）被标记成黄色方框。淋巴细胞在外周淋巴器官中应答抗原，如淋巴结或脾

我们稍后将会谈论到，大多数淋巴细胞发育后不久还不曾发挥功能，就在中枢淋巴器官中死亡。然而，其他细胞发育成熟，并通过血液迁移至**外周淋巴器官（peripheral lymphoid organ）**或**二级淋巴器官（secondary lymphoid organ）**——主要是淋巴结、脾、胃肠道、呼吸道和皮肤中与上皮组织相关的淋巴样组织（图 24-3）。早先曾提到，T 细胞和 B 细胞是在外周淋巴器官中与外来抗原发生反应（图 24-6）。

只有在 T 细胞和 B 细胞被抗原激活之后，它们才能在形态上彼此区别。非激活 T 细胞和

B 细胞即使在电子显微镜下看起来也非常类似。两种细胞都小，仅比红细胞稍大，几乎不含胞质［图 24-7（A）］。两者被抗原激活后进行增殖，成熟为效应细胞（effector cell）。效应 B 细胞分泌抗体。在它们最成熟的形式——浆细胞中，包内充满大量的粗面形内质网［图 24-7（B）］；相反，效应 T 细胞［图 24-7（C）］含有极少量的内质网，且不分泌抗体。

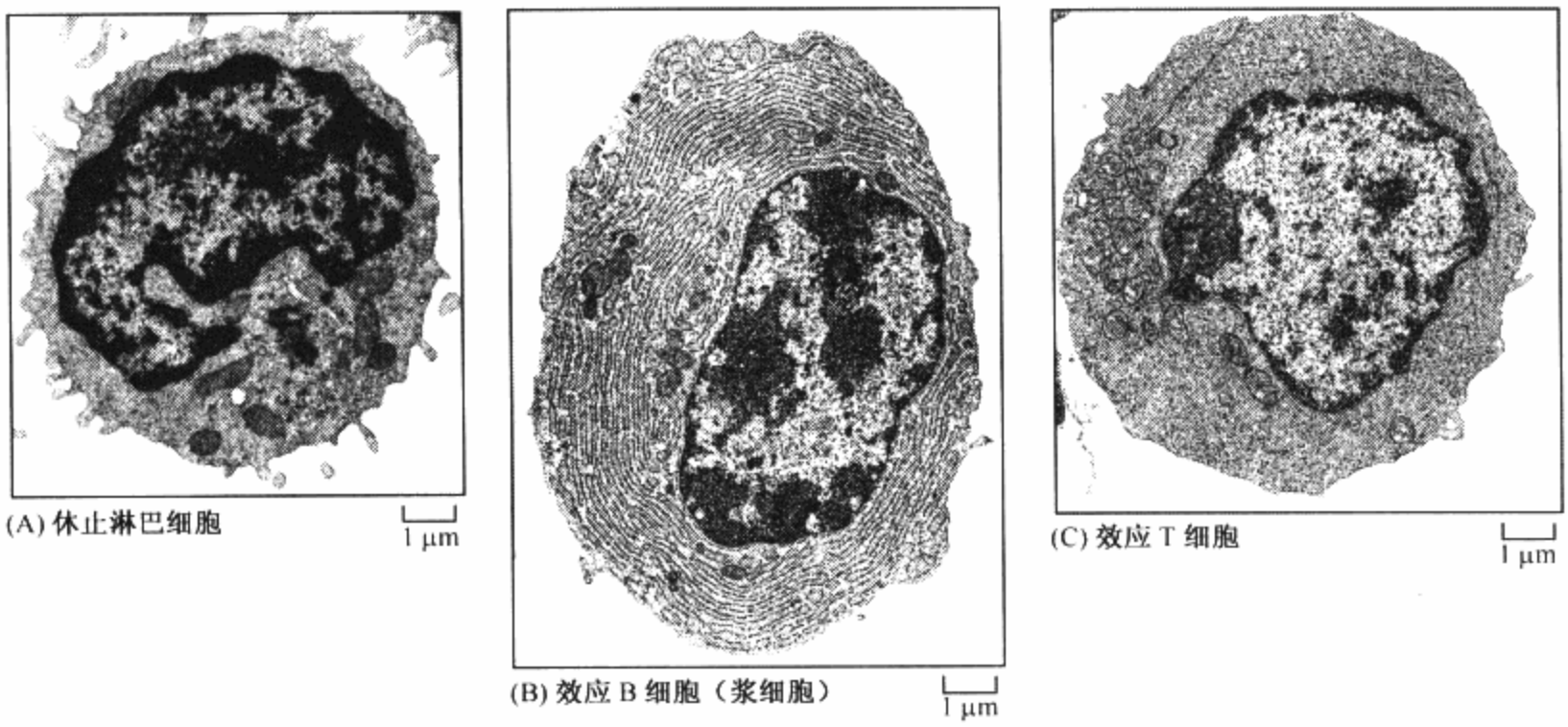


图 24-7　未活化和活化淋巴细胞的电子显微镜照片

（A）一个休止淋巴细胞，可能是 T 细胞或 B 细胞，这些细胞在它们被激活成为效应细胞之前难以在形态学上加以区分。（B）一个效应 B 细胞（浆细胞）。胞内充满大量的粗面型内质网（ER），其内充满抗体分子。（C）一个效应 T 细胞，含有相对较少的粗面型内质网，但充满游离核糖体。注意，这三种细胞以同样的放大倍数显示［（A）经 Dorothy Zucker-Franklin 许可；（B）经 Carlo Grossi 许可；（A）和（B）摘自 D. Zucker-Franklin et al.，Atlas of Blood Cells：Function and Pathology，2nd edn. Milan，Italy：Edi. Ermes，1988；（C）经 Stefanello de Petris 许可）

T 细胞有两种主要类型——细胞毒 T 细胞（cytotoxic T cell）和辅助 T 细胞（helper T cell）。细胞毒 T 细胞杀死被感染的细胞，而辅助 T 细胞则帮助激活巨噬细胞、B 细胞和细胞毒 T 细胞。辅助 T 细胞分泌多种称为**细胞因子**的信号蛋白，起局部调节剂的作用，在其表面还有许多共刺激蛋白。通过这些细胞因子和膜结合的共刺激蛋白，它们能影响它们帮助的各种类型细胞的行为。细胞毒 T 细胞杀死被感染的靶细胞也是通过它们分泌的或展示在其表面的蛋白质。因此，B 细胞能通过随血流分布的分泌抗体发挥远距离效应，T 细胞也能迁移至远处，但是它们只对邻近细胞起局部作用。

获得性免疫系统通过克隆选择发挥作用

获得性免疫系统最显著的特征是，它能以一种高度特异的方式对数百万种不同的外来抗原作出反应。例如，B 细胞制造的抗体与诱导其产生的抗原发生特异反应。B 细胞怎样产生特异性抗体的多样性呢？该答案于 20 世纪 50 年代随**克隆选择学说（clonal selection theory）**的形成而开始出现。按照这一理论，首先，一个动物随机产生大量不同的淋巴细胞，然后，这些能与外来抗原（动物事实上遇到的抗原）反应的淋巴细胞被特异的选择用于发挥作用。由于每个淋巴细胞在中枢淋巴器官中发育，所以在暴露于抗原之前，它保证能与一个特异抗原发生反应。它以与抗原特异结合的细胞表面受体蛋白的形式来保证反应。当淋巴细胞在外周淋巴器官中遇到其抗原时，抗原与受体的结合激活淋巴细胞，使之增殖并分化成一个效应

细胞。因此，抗原选择性地刺激那些表达抗原特异受体因而保证与之反应的细胞。这就使得获得性免疫应答是抗原特异的。

在克隆选择学说中的术语“克隆”来源于这样一种假说：获得性免疫系统有数百万个不同的淋巴细胞家族或克隆组成，每个克隆都是由一个共同的祖先细胞遗传下来的 T 细胞或 B 细胞组成。每个祖先细胞已保证制造一种抗原特异的特殊受体蛋白，因此，一个克隆中的所有细胞都有相同的抗原特异性（图 24-8）。然后，根据克隆选择学说，免疫系统发挥功能是按照“现成”（ready-made）原则而不是“定做”（made-to-order）原则。

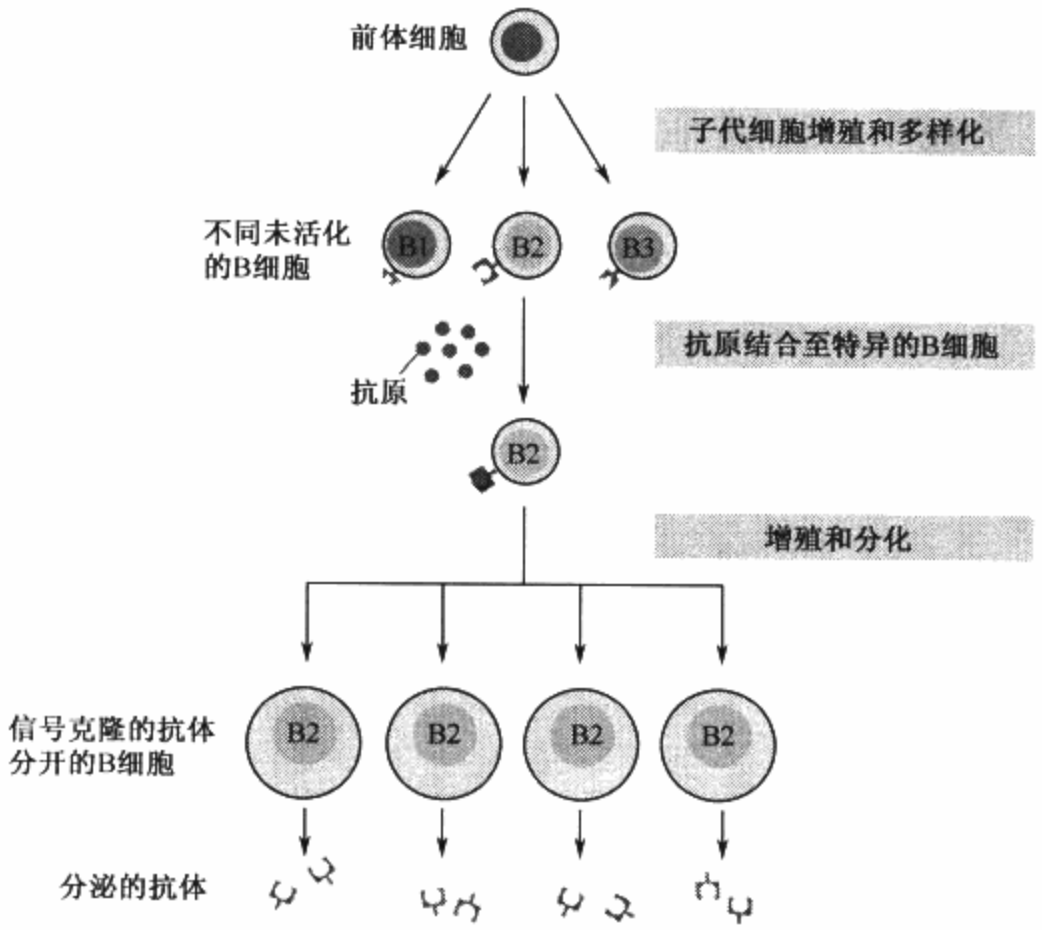


图 24-8　克隆选择理论

抗原仅激活那些已经注定对其做出应答的淋巴细胞克隆（图中以单个细胞表示）。注定对一个特殊抗原做出应答的细胞展示特异识别该抗原的细胞表面受体，一个克隆中的所有细胞展示相同的受体。一般认为，免疫系统由数百万种不同的淋巴细胞克隆组成。一个特殊抗原可能激活数百种不同的克隆。尽管图中仅显示 B 细胞，但 T 细胞也以类似的方式发挥作用

有非常有力的证据支持克隆选择学说的主要论点。例如，当来自未经免疫的动物的淋巴细胞在试管中与许多放射性标记的抗原孵育时，仅有很小一部分（小于 0.01%）与各自的抗原结合，提示仅有少数几个细胞必定与这些抗原反应。而且，当一种抗原的放射性足够高，以致杀死与之结合的任何细胞时，保留下来的淋巴细胞不再对该特殊抗原产生免疫反应，即使它们仍能与其他抗原正常反应。因此，定型淋巴细胞的表面必须有与该抗原特异结合的受体。尽管这种类型的大部分实验都涉及 B 细胞和抗体反应，但是其他实验表明，T 细胞像 B 细胞一样通过克隆选择来运作。

获得性免疫系统怎样才能产生总体上具有如此巨大的受体多样性的淋巴细胞，包括识别自然界从未出现过的合成分子的受体？我们将在后面见到，早在淋巴细胞发育过程中，在遇到抗原之前，编码 T 细胞和 B 细胞上的抗原特异受体的基因，通过一种独特形式的遗传重组由一系列基因片段组装而成。这一组装过程产生受体和淋巴细胞的庞大多样性，因此使免疫

系统对几乎无限多样性的抗原做出反应。

大多数抗原激活许多不同的淋巴细胞克隆

大多数大分子，实际上包括所有的蛋白质和多数多糖，都可作为抗原。与抗体分子或淋巴细胞受体上的抗原结合位点相结合的抗原的那些部分称为**抗原决定簇（antigenic determinant）**或表位（epitope）。大多数抗原有许多种能刺激抗体产生和（或）特异 T 细胞反应的抗原决定簇。这样的决定簇是免疫显性决定簇（immunodominant）。

淋巴细胞的多样性是，甚至单一一个抗原决定簇也可能激活许多克隆，每个克隆产生一个抗原结合位点，具有其自身特异性的对决定簇的亲和力。甚至是一个相对简单的结构，如图 24-9 中的二硝基苯基（DNP）基团，也可通过多种方式来“观察”。如图所示，当它与一个蛋白质偶联时，它常常刺激产生数百种抗 DNP 抗体，每种都由一个不同的 B 细胞克隆产生，就说这样的反应是多克隆的（polyclonal）；当仅有几个克隆被激活时，就说该反应是寡克隆的（oligoclonal）；当反应仅涉及单个 B 细胞克隆或 T 细胞克隆时，就说是单克隆的（monoclonal）。单克隆抗体作为工具被广泛用于生物学和医学，但是它们必须通过特殊的途径来生产（图 8-6），因为对大多数抗原来说，该反应都是多克隆的。

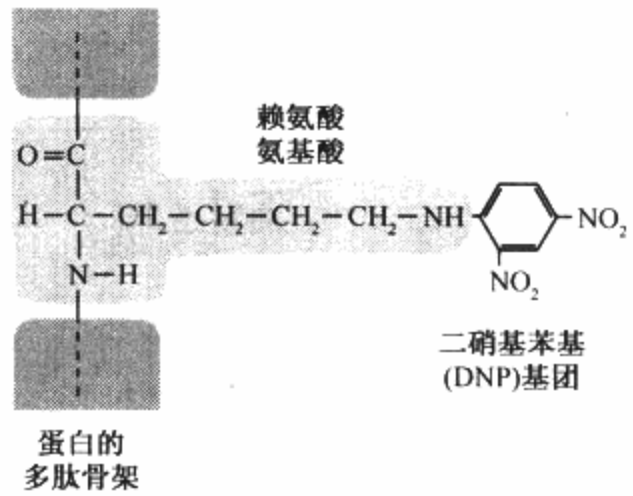


图 24-9　二硝基苯基（DNP）基团

尽管 DNP 太小而不能独自诱导免疫应答，但是当它与一个蛋白质上的赖氨酸侧链共价偶联时，如图所示，它就刺激产生数百种与它特异结合的不同种类的抗体

免疫记忆是由于克隆扩增和淋巴细胞分化的结果

获得性免疫系统像神经系统一样，能记住以前的经历。这是为什么我们在首次暴露于病原体之后获得对许多常见传染病的终身免疫，以及为什么免疫接种会起作用。在实验动物中

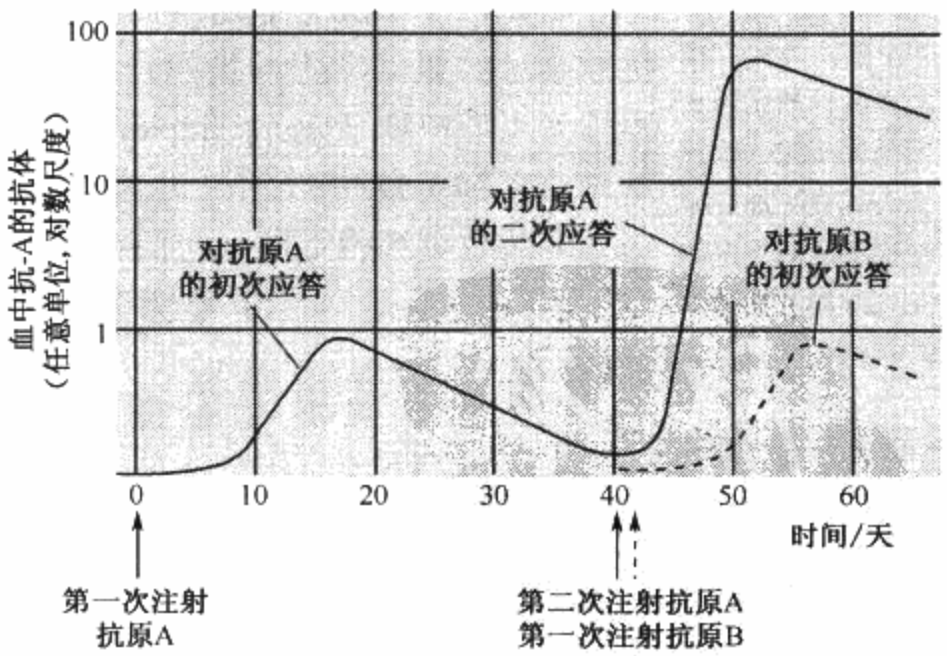


图 24-10　初次和二次抗体应答

再次暴露于抗原 A 所诱导的二次应答比初次应答更快、更强烈，并且特异于抗原 A，表明获得性免疫系统特异性地记住了以前遇到的抗原 A。相同类型的免疫记忆在 T 细胞介导的应答中也可观察到

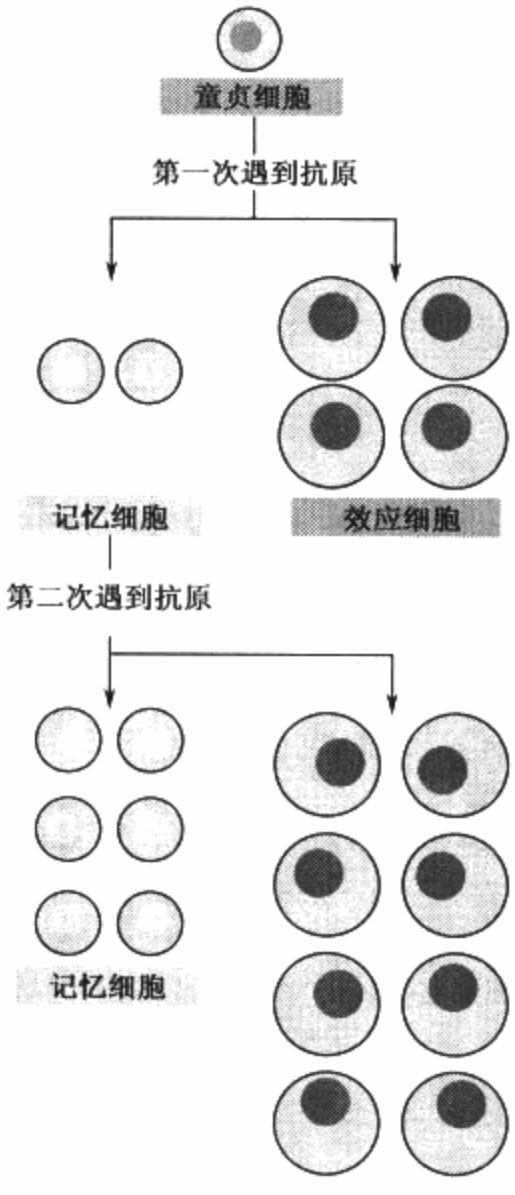


图 24-11　免疫记忆的细胞基础的一个模型

当童贞淋巴细胞受到特殊抗原的刺激时，它们就增殖和分化。大部分转变成为效应细胞，发挥功能，然后死亡，而其他的则转变成为长寿记忆细胞。在以后暴露于相同抗原期间，记忆细胞的应答比童贞细胞更加容易和迅速：它们增殖并产生效应细胞和更多的记忆细胞。至于 T 细胞，记忆细胞也能从效应细胞发育而来（图中未显示）

也发生相同现象。如果动物一旦用抗原 A 免疫，免疫反应（抗体或细胞介导）在几天后就会出现，迅速地呈指数上升，然后逐渐减弱。这是**初次免疫应答（primary immune response）**过程的特性，发生于动物第一次接触抗原时。如果在经过数周、数月或者甚至数年后，再次用抗原 A 注射动物，通常会产生与初次免疫应答很不相同的**二次免疫应答（secondary immune response）**（延迟期更短，应答更强烈）。这些差异表明：动物“记得”它与抗原 A 的首次接触。如果动物被注射一种不同的抗原（如抗原 B），而不是第二次注射抗原 A，那么其应答就是典型的初次免疫应答，而不是二次免疫应答。因此，二次应答必定表现抗原 A 特异的**免疫记忆**（图 24-10）。

克隆选择理论提供了一种有用的概念框架，用于理解免疫记忆的细胞基础。在成年动物中，外周淋巴器官含有的细胞混合体至少处于成熟的三个阶段：童贞细胞（naïve cell）、效应细胞（effector cell）和记忆细胞（memory cell）。当**童贞细胞**第一次遇到抗原时，其中一些细胞受到刺激进行增殖，并分化成**效应细胞**，这是一种从事积极应答的细胞（效应 B 细胞）分泌抗体，而效应 T 细胞则杀死受感染的细胞或者协助其他细胞同感染作斗争）。一些童贞细胞不是成为效应细胞，而是受到刺激后进行增殖，并分化成**记忆细胞**——其本身并不从事应答，而是通过随后与相同抗原相遇而更容易更快地被诱导成为效应细胞。记忆细胞，像童贞细胞一样，或者产生效应细胞，或者产生更多的记忆细胞（图 24-11）。

因此，在初次应答期间产生免疫记忆，部分是因为抗原刺激的童贞细胞的增殖产生许多记忆细胞——该过程称为克隆扩增（clonal expansion），部分是因为记忆细胞比童贞细胞能更敏感更迅速的对相同抗原做出反应。与大多数效应细胞不同（它们在几天或几周内死亡），记忆细胞在动物的一生中都能存活，因此提供终身免疫记忆。

获得性免疫耐受确保自身抗原免受攻击

在第 25 章中讨论到，天然免疫系统中的细胞识别宿主内不存在的病原体表面的分子。获得性免疫系统的识别任务要困难得多：它必须能与几乎无限的外来大分子发生特异反应，而避免与宿主本身的大量分子发生反应。它是怎样做到这一点的呢？一则，自身分子不诱导那些激活获得性免疫反应所需的天然免疫反应。但是，即使感染触发天然反应，自身分子仍不会正常地诱导获得性免疫反应。为何不会呢？

一个答案是，获得性免疫系统“学习”不与自身抗原发生反应。移植实验为这一学习过程提供了一系列证据。当组织从一个个体被移植到另一个个体时，只要这两个个体不是完全

相同的双胞胎，那么接受者的免疫系统通常会将供体细胞识别为异己的，并破坏它们（至于原因，我们会在后面讨论，供体细胞上的异己抗原效力很大，以致它们在没有感染或佐剂的情况下能刺激获得性免疫反应）。然而，如果来自一个小鼠品系的细胞被移植到另一个品系的新生鼠体内，那么在这些细胞中，一些细胞会在受体动物一生的大部分时间都存活，此时受体将接受来自最初供体的移植物，纵使它拒绝“第三方”移植物。显然，非己抗原能在某些环境中诱导免疫系统对它们特异性的无应答。这种针对外来抗原的抗原特异的无应答被称为**获得性免疫耐受性（acquired immunological tolerance）**（图 24-12）。

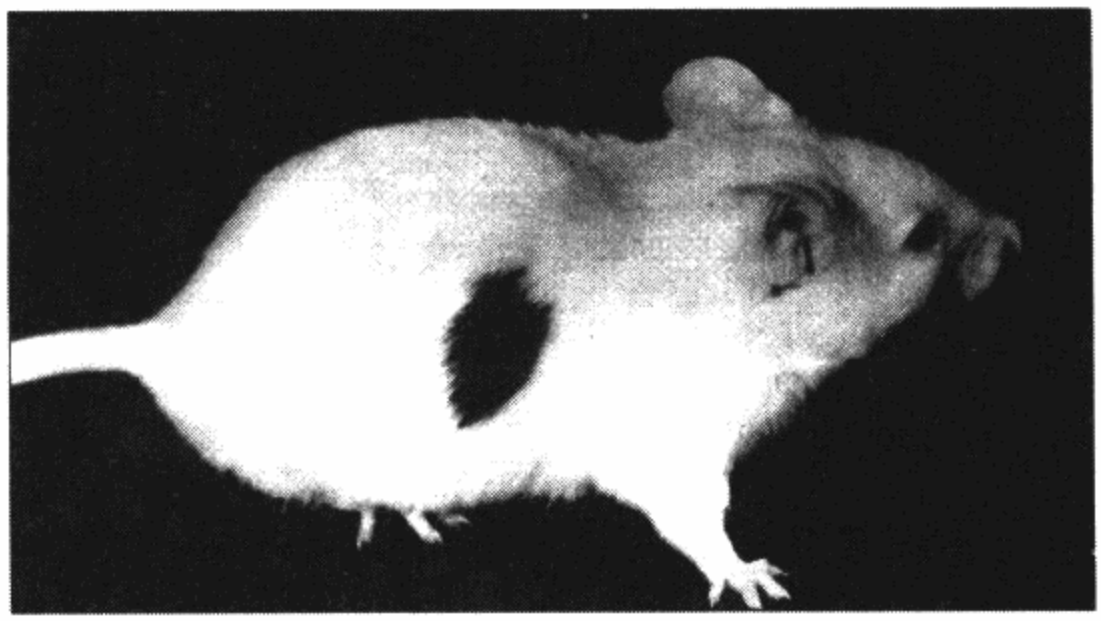


图 24-12　免疫耐受

图中所示的皮肤移植物（从一个棕色成年小鼠移植到一只白色成年小鼠）存活了许多周，仅仅是因为白色小鼠在出生时接受了来自棕色小鼠的细胞注射，因而对它们产生了免疫耐受。来自棕色小鼠的细胞在白色成年小鼠中持续存在，并继续在新形成的淋巴细胞中诱导耐受，否则就会对棕色皮肤做出应答（经 Leslie Brent 许可，摘自 I. Roitt, Essential Immunology, 6th edn. Oxford, UK: Blackwell Scientific, 1988.）

一个动物的获得性免疫系统对其自身大分子的无应答性（自然免疫耐受性，natural immunological tolerance）通过同样的方式获得。例如，正常小鼠不能对其补体系统的自身蛋白组分 C5 产生免疫应答（讨论见第 25 章）。然而，缺乏编码 C5 的基因的突变小鼠（但在遗传的其他方面与正常小鼠完全一致）当用这种蛋白质免疫时，能对这种血液蛋白质产生强烈的免疫反应。对特殊自身分子的自然免疫耐受性只要这种分子一直在体内就会持续存在。如果除去自身分子如 C5，那么动物会在几周或几个月之后获得对它产生应答的能力。因此，免疫系统在遗传上能对自身分子产生应答，但它却学会了不这么做。

导致自身耐受的学习过程可能涉及杀死自身反应性淋巴细胞（克隆排除，clonal deletion）、使其功能失活（克隆无反应或失活，clonal anergy or inactivation）、刺激细胞产生不再识别自身抗原的改良受体（受体编辑，receptor editing）或者通过一种特殊类型的细胞调节 T 细胞抑制自身反应性淋巴细胞。当新形成的自身反应性淋巴细胞首先遇到其自身抗原时，这一过程就在中枢淋巴器官中开始了。未成熟淋巴细胞不是通过结合抗原而被失活，而是被诱导改变其受体或通过细胞凋亡而死亡。有可能对中枢淋巴器官中不存在的自身抗原产生应答的淋巴细胞常常死亡，或者在它成熟并迁移至外周淋巴器官后被失活或受到抑制。

自身抗原的结合为何会导致耐受而不是激活呢？我们将会在后面讨论到，对一个在外周淋巴器官中被激活的淋巴细胞来说，它不仅必须结合其抗原，而且还必须收到共刺激信号

(costimulatory signal)。对 B 细胞来说，后面的信号由辅助 T 细胞提供，至于 T 细胞，后面的信号则由抗原呈递细胞提供。共刺激信号的产生通常依赖于与病原体的接触，因此自身反应性淋巴细胞通常在没有这类信号时遇到其抗原。如果没有共刺激信号，抗原倾向于杀死或失活淋巴细胞而不是激活淋巴细胞（图 24-13）。

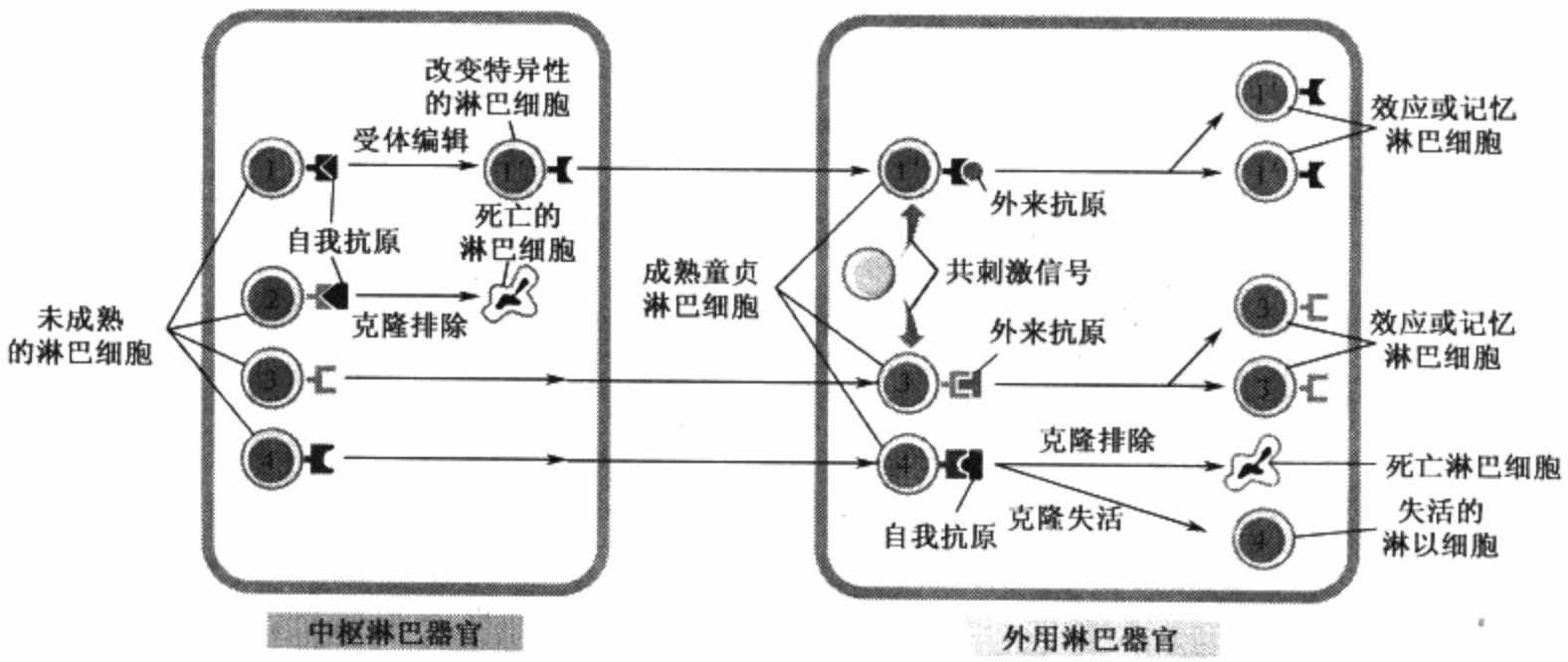


图 24-13　在中枢和外周淋巴器官中诱导对自身抗原的免疫耐受

当一个未成熟的自身反应性淋巴细胞在中枢淋巴器官（该细胞的产生处）中与自身抗原结合时，它可能被诱导改变它产生的受体，结果它就不再具有自身反应性。这一过程称为受体编辑，它似乎只在发育 B 细胞中出现。另一方面，细胞可能通过细胞凋亡而死亡，这一过程称为克隆排除。当一个自身反应性童贞淋巴细胞在中枢淋巴器官中逃脱免疫耐受，并在外周淋巴器官中与其自身抗原结合时，它可能通过细胞凋亡而死亡或者被失活，因为这种结合通常是在没有共刺激信号时发生。图中尽管没有显示，但是还有一些自身反应性细胞存活下来，并被特殊调节 T 细胞抑制。当一个童贞淋巴细胞在存在共刺激信号的外周淋巴器官中结合一个外来抗原时，它受到刺激，增殖、分化成一个效应细胞或记忆细胞。由于微生物通常负责诱导共刺激信号，所以大部分获得性免疫反应通常只有在对微生物做出应答时才发生

对自身抗原的耐受有时会崩溃，致使 T 细胞或 B 细胞（或者二者共同）对有机体的自身组织抗原产生反应。重症肌无力（myasthenia gravis）是这类**自身免疫性疾病**的一个例子。受累个体制造出针对其自身骨骼肌细胞上的乙酰胆碱受体的抗体。这些抗体妨碍受体的正常功能，结果患者变得虚弱并可能死亡，因为它们不能呼吸。在自身免疫性疾病中负责对自身抗原耐受的崩溃的机制还不知道。然而，一般认为，通过感染来激活天然免疫系统可能在遗传上易感染的个体中有助于触发某种抗自身应答。

淋巴细胞不断地循环通过外周淋巴器官

一般而言，病原体进入体内是通过上皮外表，通常是通过皮肤、消化道或呼吸道。微生物抗原怎样从这些入口点转移至外周淋巴器官如淋巴结或脾（淋巴细胞在此处被激活）（图 24-6）的呢？其路线和目的地依赖于进入的位点。通过皮肤或呼吸道进入的抗原随淋巴被运输至局部淋巴结；通过消化道进入的抗原最终停止在消化道相关的外周淋巴器官如派伊尔（氏）淋巴集结；进入血液的那些抗原经脾脏滤出。在大多数情况下，树突状细胞携带抗原从感染侧运输到外周淋巴器官，在此它们变成抗原呈递细胞（图 24-5），专门用于活化 T 细胞（正如我们后面将要讨论的）。

但是，能识别外周淋巴器官中的特殊微生物抗原的淋巴细胞仅是整个淋巴细胞群体的一小部分。这些罕见细胞怎样找到展示其抗原的抗原呈递细胞的呢？答案是，它们在淋巴和血

液之间持续不断的循环直至遇到其抗原。例如，在淋巴结中，淋巴细胞不断从沿毛细血管后微静脉（postcapillary venule）排列的特化内皮细胞之间挤出来，离开血流。它们从淋巴结滤出来之后，累积在离开淋巴结并与经过下游淋巴结的其他淋巴管连接的小淋巴管（图 24-3）。淋巴细胞流经的淋巴管越来越大，最终进入主淋巴管（胸导管，thoracic duct），并由此运送回血液（图 24-14）。只有淋巴细胞在外周淋巴器官中遇到抗原呈递细胞表面的特异抗原（和共刺激信号）时，血液和淋巴之间这种连续不断的再循环才会终止。现在，淋巴细胞滞留在外周淋巴器官中，并在此增殖和分化成效应细胞。然后，一些效应 T 细胞经淋巴离开该淋巴器官，并通过血液迁移至感染位点（图 24-5）。

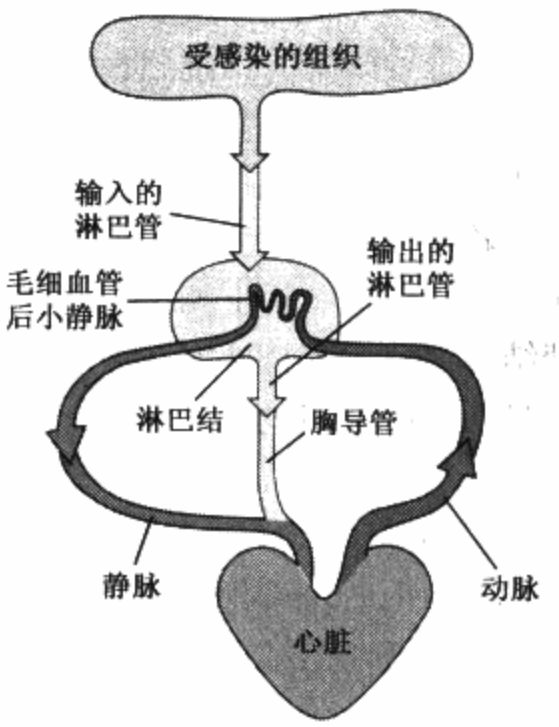


图 24-14　淋巴细胞在淋巴和血液之间持续不断的循环时所经历的路线

图中显示通过淋巴结的循环。微生物抗原被树突状细胞输入淋巴结——通过与感染组织相连的输入淋巴管进入。相反，T 细胞和 B 细胞通过动脉进入淋巴结，并通过毛细血管后微静脉从血流中迁移出来。除非它们与其抗原相遇，否则 T 细胞和 B 细胞就通过输出淋巴管（最终与胸导管相连）离开淋巴结，胸导管连通一条运输血液至心脏的大静脉。一个典型的循环周期需要 12～24h

淋巴细胞再循环依赖于淋巴细胞表面和沿外周淋巴器官中的毛细血管后微静脉排列的特化内皮细胞表面之间的特异相互作用。血液中的许多细胞类型与这些内皮细胞都有联系，但是只有淋巴细胞附着，然后从血流移行出来。淋巴细胞最初通过内皮细胞表面与特异配基结合（通常称之为反受体，counterreceptor）的归巢受体（homing receptor）附着在内皮细胞上。例如，淋巴细胞移行进入淋巴结依赖于称为 L-选择蛋白（L-selectin）的归巢受体蛋白，该蛋白质是在第 19 章讨论过的细胞表面凝集素的选择蛋白家族中的一个成员。这种蛋白质与反受体上的特异糖基结合，该受体仅在淋巴结中的特化内皮细胞表面表达，致使淋巴细胞轻微附着在内皮细胞表面，并沿其表面缓慢滚动。这种滚动持续进行，直至另一个强得

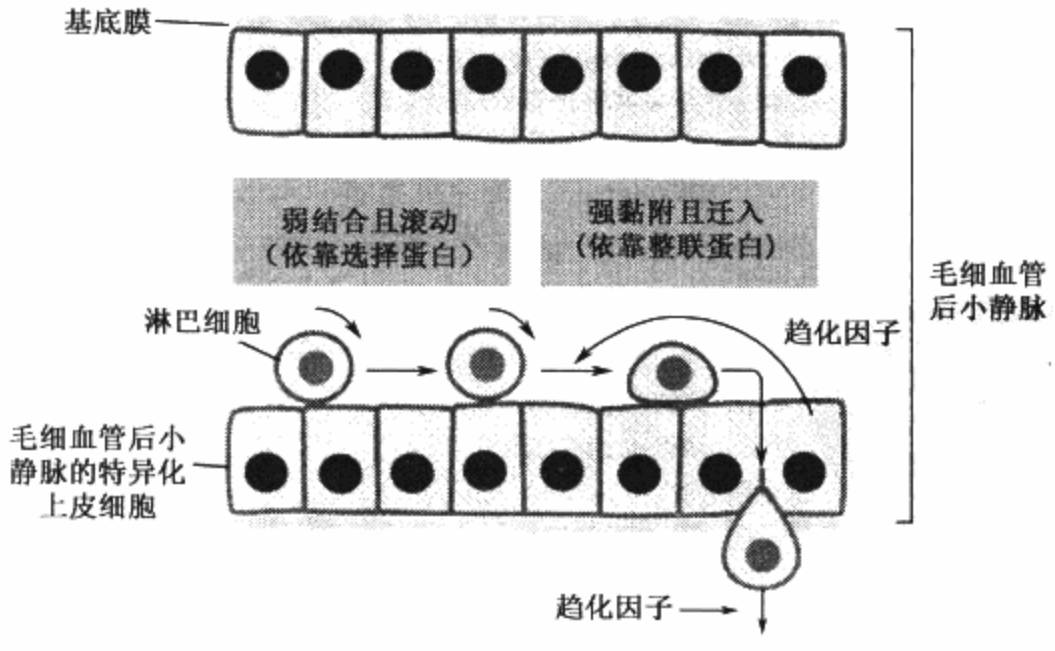


图 24-15　淋巴细胞从血流迁移进入淋巴结

循环中的淋巴细胞微弱地黏附在沿淋巴结毛细血管后小静脉排列的特化内皮细胞表面。这种初期的黏附由表面的 L-选择蛋白介导。这种黏附非常微弱，使淋巴细胞能沿内皮细胞的表面滚动，通过血液的流动向前推进。受到内皮细胞分泌的趋化因子的刺激后，淋巴细胞迅速激活一个由整合蛋白介导的更强的黏附系统。这种强黏附使细胞能停止滚动，并从内皮细胞之间的小静脉迁移出来。淋巴结中淋巴细胞的后续迁移也依赖于淋巴结内产生的趋化因子。其他白细胞也以同样的方式从血流迁移出来，进入感染部位

多的附着体系通过内皮细胞分泌的化学引诱蛋白（称为趋化因子，chemokine；见下面）发挥作用。这种强附着由细胞黏附分子的整合蛋白（integrin）家族成员介导（讨论见第 19 章），它们在淋巴细胞表面被激活。此时，淋巴细胞停止滚动，并从血管中爬出，进入淋巴结（图 24-15）。

趋化因子分泌的带正电荷的小分子质量蛋白质，在指导各种类型白细胞的迁移中起核心作用。它们在结构上相关，并结合至内皮细胞表面，与淋巴器官中胞外基质的负电荷蛋白聚糖结合。通过与特殊血细胞表面的 G 蛋白偶联受体（讨论见第 15 章）结合，趋化因子从血流吸引这些细胞进入淋巴器官，指导它们到达器官内的特殊位置，然后协助使迁移停止（艾滋病毒 HIV 也结合趋化因子受体，使病毒感染白细胞）。T 细胞和 B 细胞最初进入一个淋巴结的相同区域，但接着被不同的趋化因子吸引至淋巴结的分隔区域——T 细胞到副皮质区（paracortex），B 细胞到淋巴样滤泡（lymphoid follicle）（图 24-16）。两类细胞不久就会通过淋巴管离开淋巴结，除非遇到它们的抗原。然而，如果它们遇到其抗原，它们就会留在淋巴结，增殖并分化成为效应细胞或记忆细胞。大部分效应细胞离开淋巴结，表达不同的趋化因子受体，帮助指导它们到达它们的新目的地——T 细胞到达感染位点，B 细胞到达骨髓。

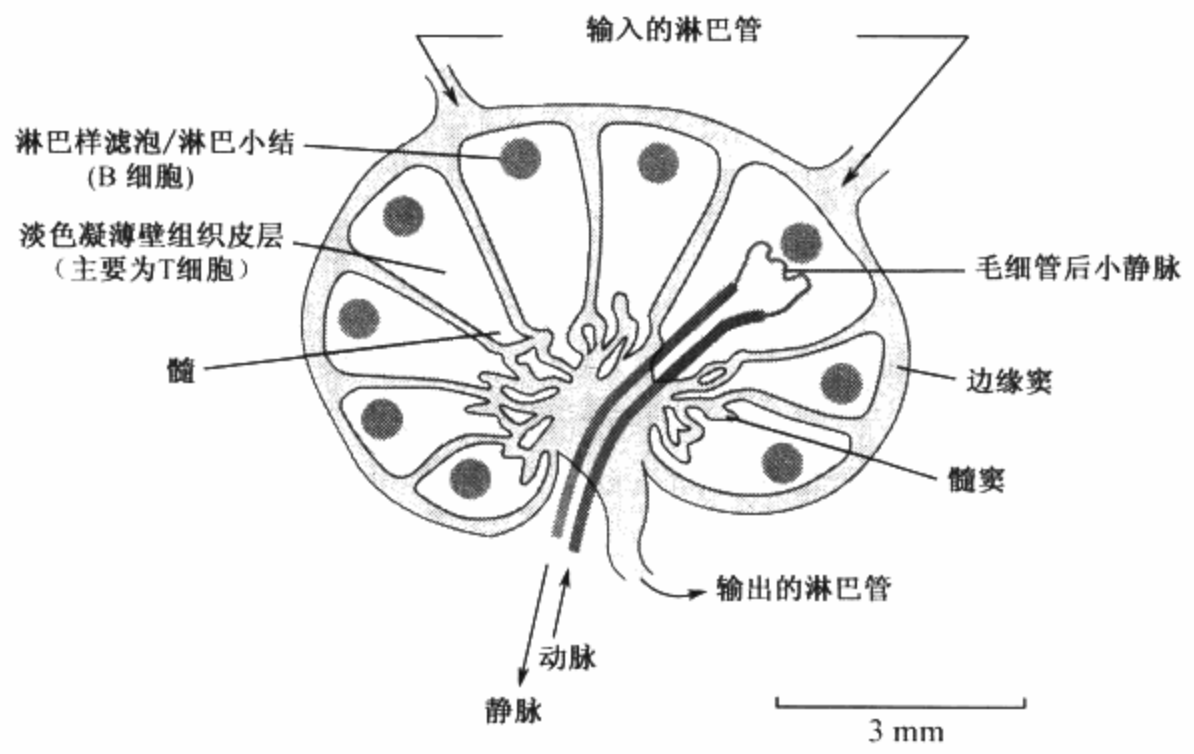


图 24-16　人淋巴结简图

B 细胞最初聚集成淋巴小结的结构，而 T 细胞则主要发现于副皮质区。两类淋巴细胞都被趋化因子吸引，通过毛细血管后小静脉从血液进入淋巴结。然后，它们被不同的趋化因子吸引，迁移到各自的区域。如果它们没有遇到其特异抗原，那么 T 细胞和 B 细胞就会进入髓窦，通过输出淋巴管离开淋巴结。这种淋巴管最终连通血流，也许淋巴细胞开始另一个通过次级淋巴器官的循环（图 24-14）

小结

天然免疫应答在感染位点被侵入病原体相关的微生物特异分子触发。除了直接与感染作斗争，这些应答还协助激活外周淋巴器官中的获得性免疫应答，与天然免疫应答不同，获得性免疫应答提供对诱导其产生的特殊病原体的特异而持久的保护。

获得性免疫系统由数百万种淋巴细胞克隆组成，每个克隆中的细胞共有一个独特的细胞表面受体，该受体使之能与特殊抗原结合。然而，抗原与这些受体的结合通常不足以刺激淋巴细胞增殖、分化成为能清除病原体的效应细胞。还需要由外周淋巴器官中的另一种特化细

胞提供的共刺激信号。辅助 T 细胞提供这种信号给 B 细胞，而抗原呈递树突状细胞通常提供这些信号给 T 细胞。效应 B 细胞分泌抗体，这些抗体能发挥长距离效应，协助清除胞外病原体及其毒素。相反，效应 T 细胞在感染位点局部起作用，或者杀死被感染的宿主细胞，或者帮助其他细胞清除病原体。作为获得性免疫应答的一部分，一些淋巴细胞增殖、分化成记忆细胞，这些记忆细胞在下次遇到相同抗原入侵时能更快更有效地做出应答。对抗自身分子的淋巴细胞或者被诱导改变其受体，或者被诱导自杀，或者被失活，或者受到抑制，结果获得性免疫系统在正常情况下对抗外来抗原。B 细胞和 T 细胞都持续不断地在血液和淋巴之间循环。只要它们在外周淋巴器官中遇到其外来抗原，它们就会停止迁移，并增殖、分化为效应细胞或记忆细胞。

B 细胞和抗体

脊椎动物如果不能制造抗体，就必定会死于感染。抗体使我们防御感染是通过与病毒和微生物毒素结合因而使之失活（图 24-2）。抗体与入侵病原体的结合还招募各种不同类型的白细胞和一组总称为补体（complement）的血液蛋白质（讨论见第 25 章）。白细胞和激活的补体成分协同作用，攻击侵入物。

抗体仅由 B 细胞合成，有数十亿种形式，每种都有不同的氨基酸序列和不同的抗原结合位点。它们总称为**免疫球蛋白（immunoglobulin，简写为 Ig）**，是血液中最丰富的蛋白质成分，重量约占胞质总蛋白质的 20%。哺乳动物有 5 类抗体，每类抗体与抗原结合后都介导一种特征性的生物反应。在本节中，我们讨论抗体的结构和功能以及它们怎样与抗原相互作用。

B 细胞使抗体成为细胞表面受体和分泌分子

克隆选择理论预言，单个 B 细胞制造的所有抗体分子有相同的抗原结合位点。由新形成的 B 细胞制造的第一个抗体并不是分泌型的，而是被插入质膜，起到抗原受体的作用。每个 B 细胞的质膜中约有 10^5 个这样的受体。我们将在后面讨论到，每个受体都与一个跨膜蛋白复合体稳定结合，当抗原与受体结合时，就会激活胞内信号通路。

每个 B 细胞仅产生一种抗体，每种抗体都有一个独特的抗原结合位点。当一个童贞 B 细胞或记忆 B 细胞被抗原（在辅助 T 细胞的协助下）激活时，就会增殖、分化成一个分泌抗体的效应细胞。这种细胞制造、分泌大量的可溶性（而不是膜结合的）抗体，这些抗体具有与早先作为抗原受体的细胞表面抗体相同的独特的抗原结合位点（图 24-17）。当效应 B 细胞还是小淋巴细胞时，就开始分泌抗体，但在其成熟途径的末期则变成大的浆细胞（plasma cell）[图 24-7（B）]，它们以每秒约 2000 个分子的速度持续不断地分泌抗体。浆细胞似乎保证了有如此之多的蛋白质合成机器制造抗体，以致它们不能

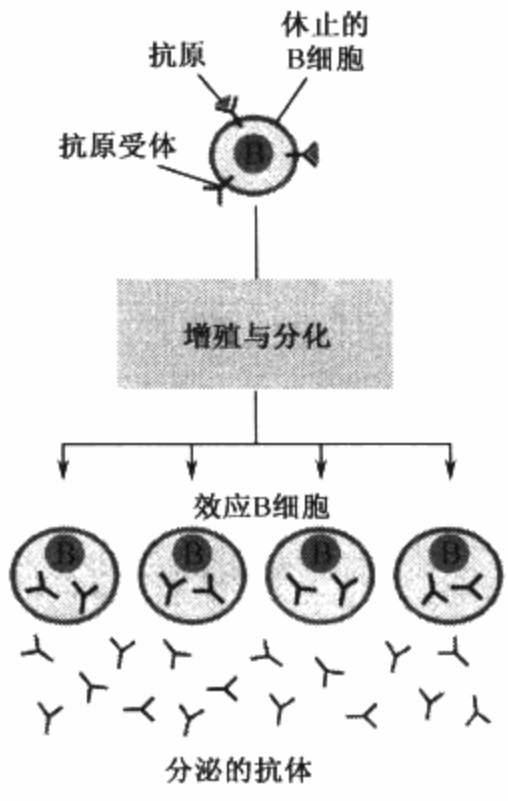


图 24-17　B 细胞活化

当童贞 B 细胞或记忆 B 细胞被抗原（和辅助 T 细胞，图中未显示）激活时，它们增殖、分化成效应细胞。这些效应细胞产生并分泌具有独特抗原结合位点的抗体，这些抗原结合位点与最初作为抗原受体的膜结合抗体的抗原结合位点相同

进一步生长和分裂。尽管许多细胞在几天后即死亡，但是一些细胞在骨髓中存活数月或数年，并继续分泌抗体进入血液。

一个典型的抗体有两个完全相同的抗原结合位点

最简单的抗体是具有两个完全相同的抗原结合位点的 Y 形分子，这些位点位于每个 Y 形壁的顶端（图 24-18）。因为它们有两个抗原结合位点，所以称它们是二价的（bivalent）。只要一个抗原有 3 个或 3 个以上的抗原决定簇，二价抗体分子就能将其交联成大的网格（图 24-19）。这些网格能被巨噬细胞快速吞噬和降解。在大多数抗体中，抗原结合和交联的效率被柔韧的铰链区大大增加，这允许两个抗原结合位点之间的距离发生改变（图 24-20）。

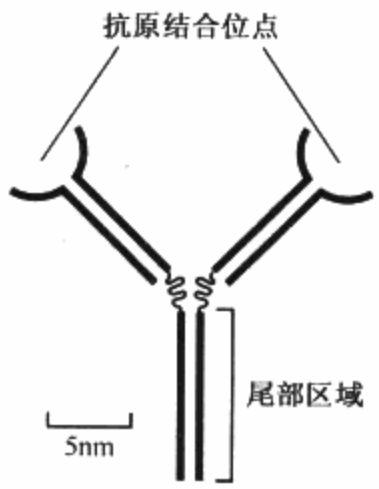


图 24-18　一个抗体分子的简单示意图

注意，它的两个抗原结合位点是完全相同的

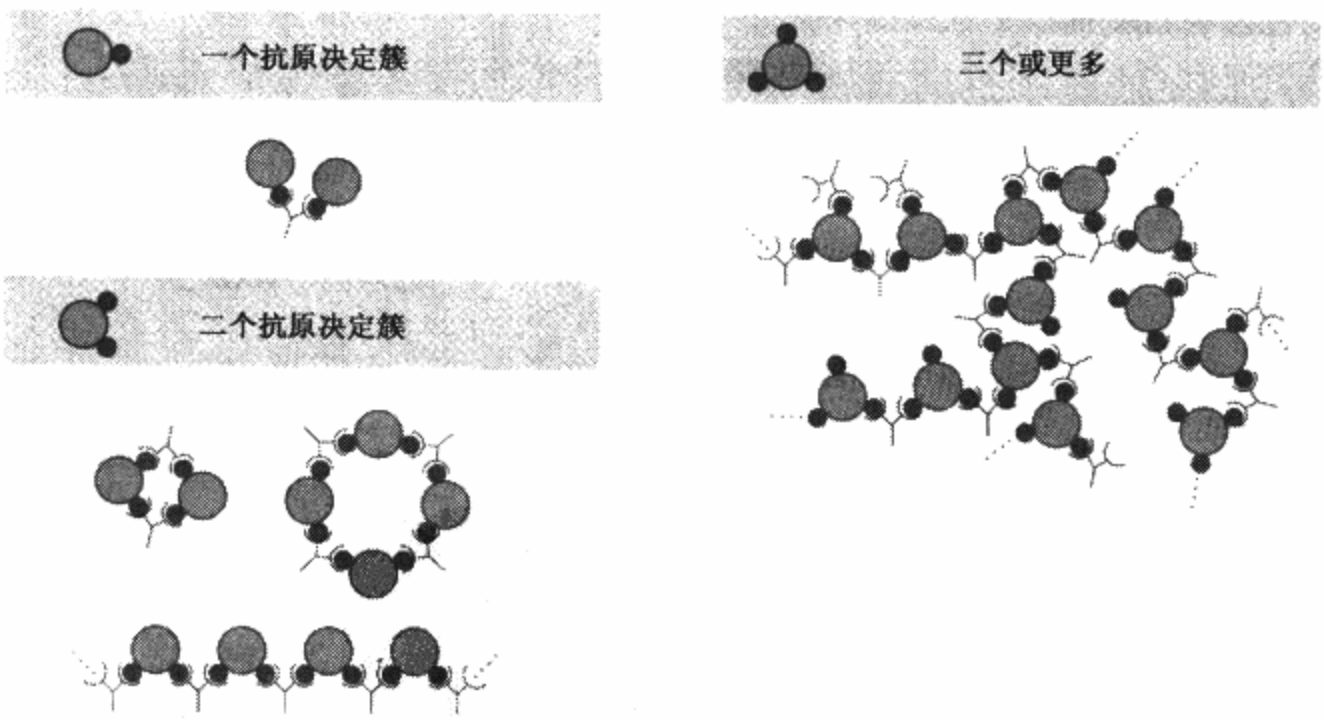


图 24-19　抗体-抗原相互作用

因为抗体有两个完全相同的抗原结合位点，所以它们能使抗原交联。所形成的抗原-抗体复合体的类型依赖于抗原分子上抗原决定簇的数目。图中显示单一种抗体（单克隆抗体）与含有一个、两个或三个单一种抗原决定簇的抗原结合。有两个抗原决定簇的抗原能与抗体形成小环形复合体或直链，而有三个或更多个抗原决定簇的抗原能形成大三维网络结构，易于从溶液中沉淀出来。大多数抗原有许多不同的抗原决定簇［图 24-29（A）］，识别不同抗原决定簇的抗体能合作使抗原交联（图中未显示）

抗体的保护效应不仅仅是由于其结合抗原的能力。它们从事一系列由 Y 形分子尾介导的活动。我们将会在后面讨论到，具有相同抗原结合位点的抗体可能有几个不同尾区中的任何一个尾区。每种类型的尾区都赋予抗体不同的功能特性，例如，激活补体系统的能力，结合吞噬细胞的能力，或者从母体穿过胎盘到达胎儿的能力。

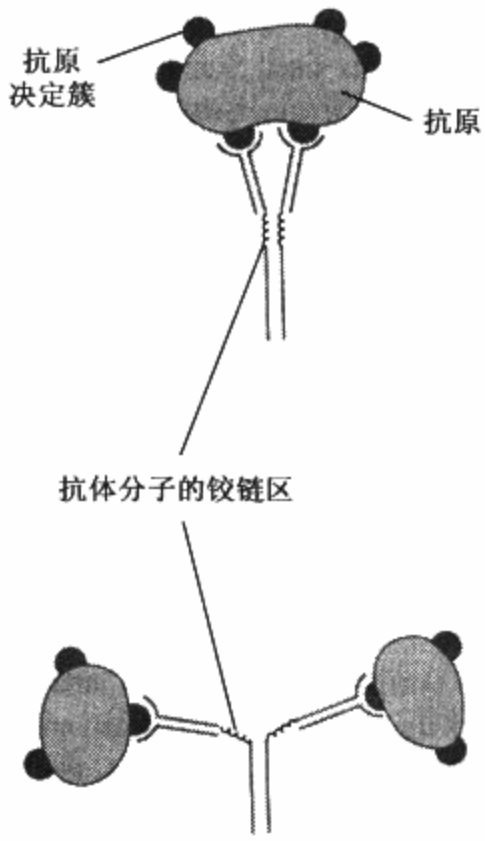


图 24-20　抗体分子的铰链区

因其具有柔韧性，所以铰链区能提高抗原结合和交联的效率

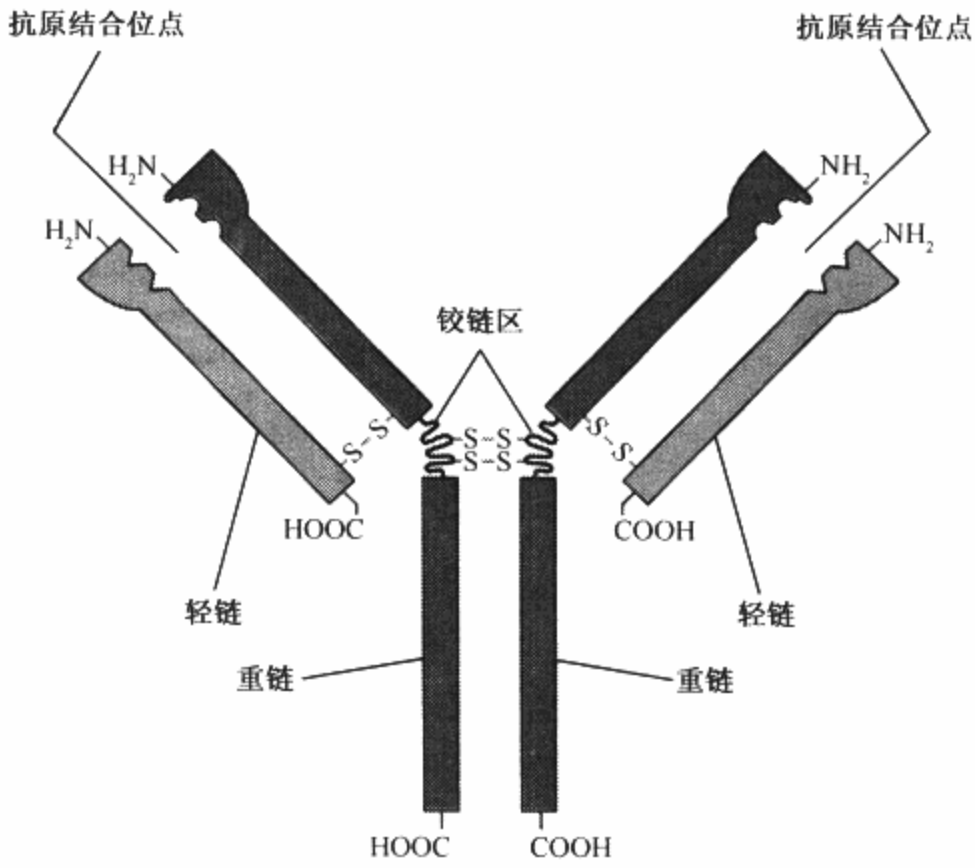


图 24-21　一个典型抗体分子的示意图

它由 4 条多肽链组成——两条完全相同的重链和两条完全相同的轻链。两个抗原结合位点完全相同，由一条轻链的 N 端区和一条重链的 N 端区组成。尾区（Fc）和铰链区由两条重链组成

抗体分子由重链和轻链组成

一个抗体分子的基本结构单位是由 4 条多肽链组成，两条完全相同**轻链**（**light chain**，**L**；每条含有约 220 个氨基酸残基）和两条完全相同的**重链**（**heavy chain**，**H**；通常每条含有约 440 个氨基酸残基）。4 条链通过非共价键和共价键（二硫键）结合在一起。该分子由完全相同的两半组成，每半都有相同的抗原结合位点。轻链和重链通常合作形成抗原结合面（图 24-21）。

重链可分为 5 大类，每类都具不同的生物学特性

在哺乳动物中，有 5 类抗体：IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM，每类都有各自的重链类，分别为 α、δ、ε、γ 和 μ。IgA 分子的重链是 α 链，IgG 分子的重链是 γ 链等。另外，IgG 和 IgA 分子有许多亚类。例如，人 IgG 有 4 个亚类（IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4），重链分别为 γ_1、γ_2、γ_3 和 γ_4。各种不同的重链都赋予抗体的绞链区和尾区以明显不同的构象，结果每类（或亚类）都有其自身的特性。

IgM 的重链是 μ 链，IgM 始终是发育中的 B 细胞制造的第一类抗体，尽管许多 B 细胞最终转变成制造其他类的抗体（讨论见下面）。B 细胞的直接前体称为**前 B 细胞（pre-B cell）**，最初制造 μ 链，与所谓的代轻链（surrogate light chain）（代替真正的轻链）连接在一起，并插入质膜。μ 链和代轻链复合体是细胞发育到下一阶段所必需的，此时它制造出真正的轻链。

轻链与 μ 链结合，代替代轻链，形成四链 IgM 分子（每个分子有两条 μ 链和两条轻链）。然后，这些分子插入质膜，作为抗原受体发挥功能。此时，细胞被称为未成熟童贞细胞（immature naïve B cell）。离开骨髓之后，细胞开始制造细胞表面 **IgD** 分子，和 IgM 分子有相同的抗原结合位点。此时，细胞被称为成熟童贞细胞（mature naïve B cell）。能对外周淋巴器官中的外来抗原做出应答的就是这种细胞（图 24-22）。

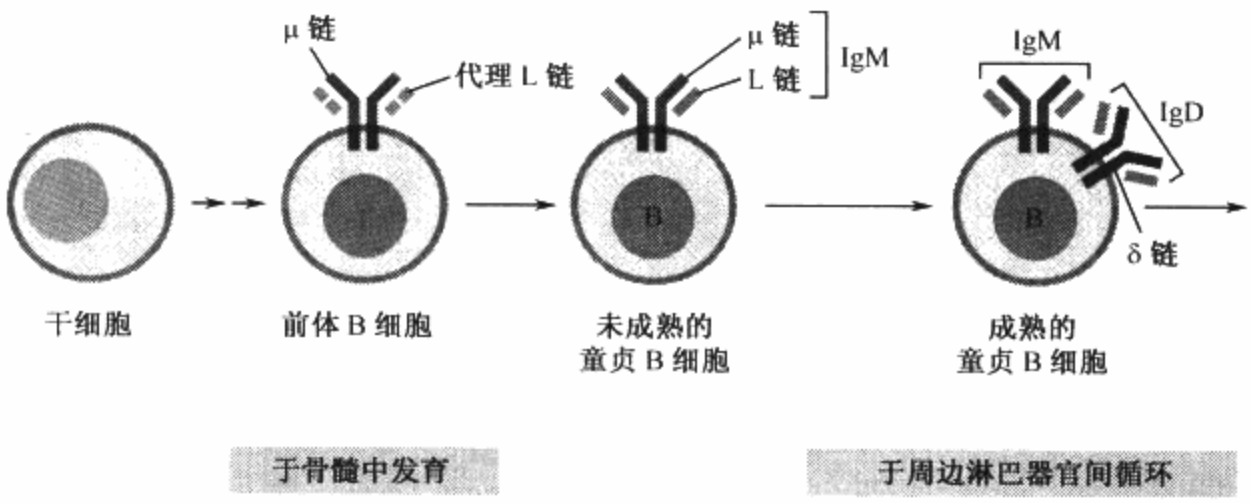


图 24-22　B 细胞发育的主要阶段

图中显示的所有阶段的发生都不依赖于抗原。当它们在外周淋巴器官中被其特异外来抗原和辅助 T 细胞激活时，成熟的童贞 B 细胞增殖和分化成效应细胞或记忆细胞（图中未显示）

IgM 不仅是出现在发育中的 B 细胞表面的第一类抗体，也是在第一次接触抗原的初次抗体应答的早期阶段分泌进入血液的主要类型（与 IgM 不同，IgD 分子的分泌量很小，似乎主要作为抗原的细胞表面受体而起作用）。分泌型 IgM 是一个五聚体，由 5 个四链单位组成，因而共有 10 个抗原结合位点。每个五聚体含有一拷贝另外一种多肽链，称为连接链（joining chain）或 J

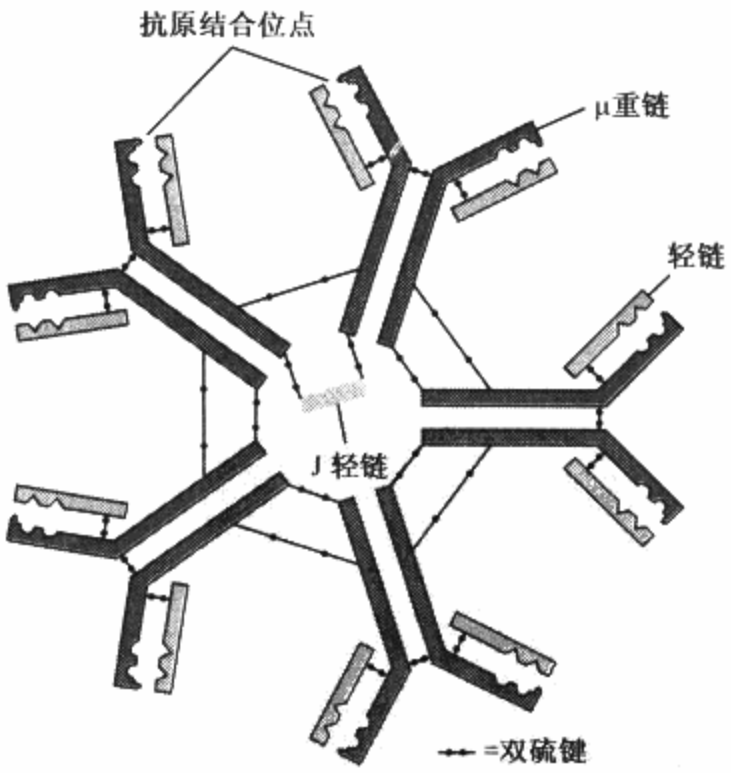


图 24-23　五聚体 IgM 分子

5 个亚单位通过二硫键（红色）聚集在一起。单一 J 链［其结构类似于单一 Ig 结构域（稍后讨论）］与两条 μ 重链尾之间形成二硫键。J 链是五聚体的形成所必需的。每加入一个连续的四链 IgM 亚单位都需要一个 J 链，然后 J 链被丢弃，只有最后一个 J 链留下。注意 IgM 分子没有绞链区

链（J chain）。J 链由 IgM 分泌细胞制造，共价插入两个邻近尾区之间（图 24-23）。

抗原与单个分泌型五聚体 IgM 分子结合能激活补体系统。第 25 章将会讨论到，当抗原位于入侵病原体的表面时，补体的这种激活或者能标记病原体用于吞噬，或者直接杀死病原体。

血液中的主要免疫球蛋白类型是 **IgG**，这是在二次免疫应答过程中大量产生的一个四链单聚体。除了激活补体，IgG 分子的尾区还与巨噬细胞和中性粒细胞上的特异受体结合。这些吞噬细胞主要通过这种 **Fc 受体**（如此命名是因为抗体的尾部被称为 Fc 区）结合、摄入并破坏其上覆盖有响应感染而产生的 IgG 抗体的感染微生物（图 24-24）。

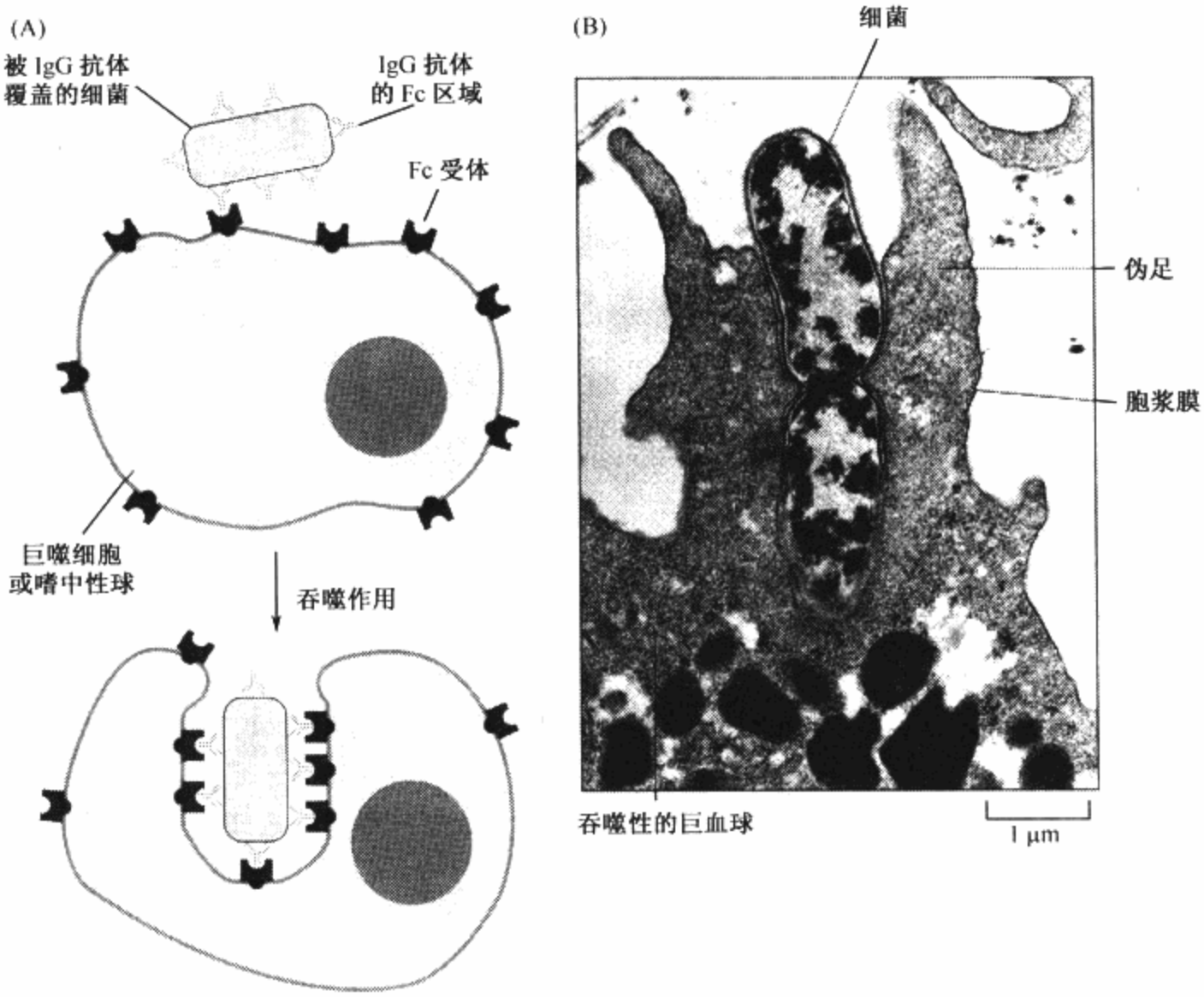


图 24-24　抗体激活的吞噬作用

（A）覆盖有 IgG 抗体的细菌被巨噬细胞或中性粒细胞有效吞噬，这些吞噬细胞表面有与 IgG 分子尾（Fc）区结合的细胞表面受体。覆盖有抗体的细菌与这些 Fc 受体的结合可激活吞噬过程。抗体分子的尾被称为 Fc 区，这是因为，当抗体用蛋白水解酶木瓜蛋白酶切割时，含有尾区的片段容易结晶。（B）吞食覆盖有 IgG 的细菌（正在进行分裂）的中心粒细胞的电子显微镜照片［（B）经 Dorothy F. Bainton 许可，摘自 R. C. Williams, Jr. and H. H. Fudenberg, Phagocytic Mechanisms in Health and Disease. New York: Intercontinental Book Corporation, 1971］

IgG 分子是唯一能通过胎盘从母体传递给胎儿的抗体。与母血接触的胎盘细胞由 Fc 受体与来源于血液的 IgG 分子结合，并直接传递给胎儿。与受体结合的抗体分子通过受体介导的内吞作用首先被摄入胎盘细胞。然后，它们在小囊泡中被运输通过细胞，并通过胞吐作用被释放进入胎儿血液，该过程称为跨细胞运输（transcytosis，讨论见第 13 章）。因为其他类型的抗体不与这些特殊的 Fc 受体结合，所以它们不能通过胎盘。IgG 也被分泌进入母乳，并从新生儿的消化道被吸收进入血液，给婴儿提供保护，以防御感染。

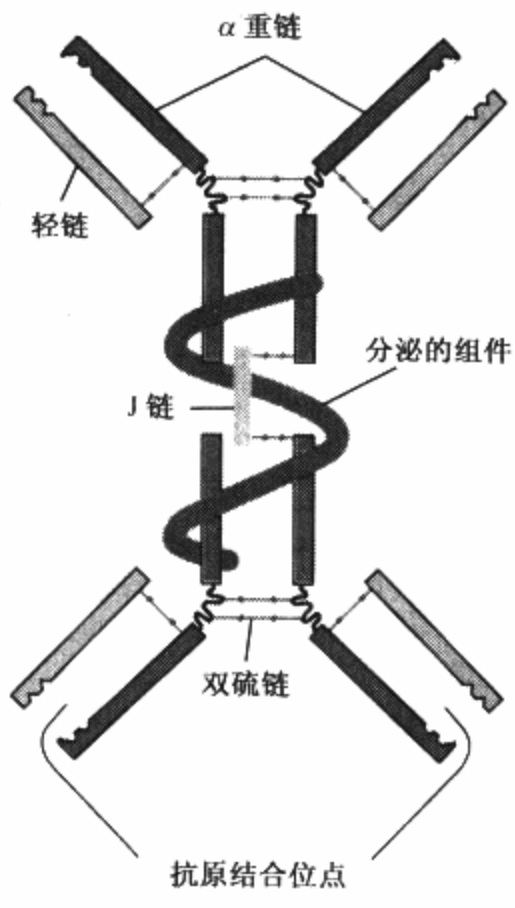


图 24-25　分泌液中发现的二聚体 IgA 分子的高度简化图

除两个 IgA 单体外，还有一条单一 J 链和一条称为分泌组分（secretory component）的额外多肽链，额外链的作用一般认为是保护 IgA 分子免受分泌液中蛋白水解酶的消化

IgA 是分泌液中的主要抗体类型，包括唾液、眼泪、乳液以及呼吸道和肠分泌液。IgA 在分泌液中是一种八链二聚体，而在血液中则是一种四链单体（图 24-25）。它通过分泌上皮细胞独特的另一类 Fc 受体经分泌型上皮细胞从细胞外液运输到分泌液（图 24-26）。这种 Fc 受体也能运输 IgM 进入分泌液（但效率很低），这很可能是为什么具有选择性 IgA 缺陷（抗体缺陷的最常见形式）的个体仅受到轻度影响。

IgE 分子（四链单体）的尾区以异常高亲和力（$K_a \approx 10^{10}$ L/mol）与另一类 Fc 受体结合。这些受体位于组织中的肥大细胞（mast cell）和血液中的嗜碱性粒细胞表面。结合至这些受体上的 IgE 分子作为抗原的被动获得性受体而起作用。抗原的结合触发肥大细胞或嗜碱性粒细胞分泌许多种细胞因子和生物活性胺，尤其是组氨酸（histamine）（图 24-27）。这些分子使血管扩张、渗漏，反过来又协助白细胞、抗体和补体成分进入感染位点。这些分子还是过敏反应如花粉症、哮喘和荨麻疹的症状的主要原因。另外，肥大细胞分泌吸引和激活称为嗜酸性粒细胞的白细胞。这些细胞也有结合 IgE 分子的 Fc 受体，并能杀死各种不同类型的寄生虫，尤其是当寄生虫被覆有 IgE 抗体时。

除了在抗体分子中发现的五类重链外，高等脊椎动物还有两种轻链型，κ 和 λ，二者似乎不能在功能上加以区别。任何一种轻链型都可能与任何一类重链相结合。然而，各个抗

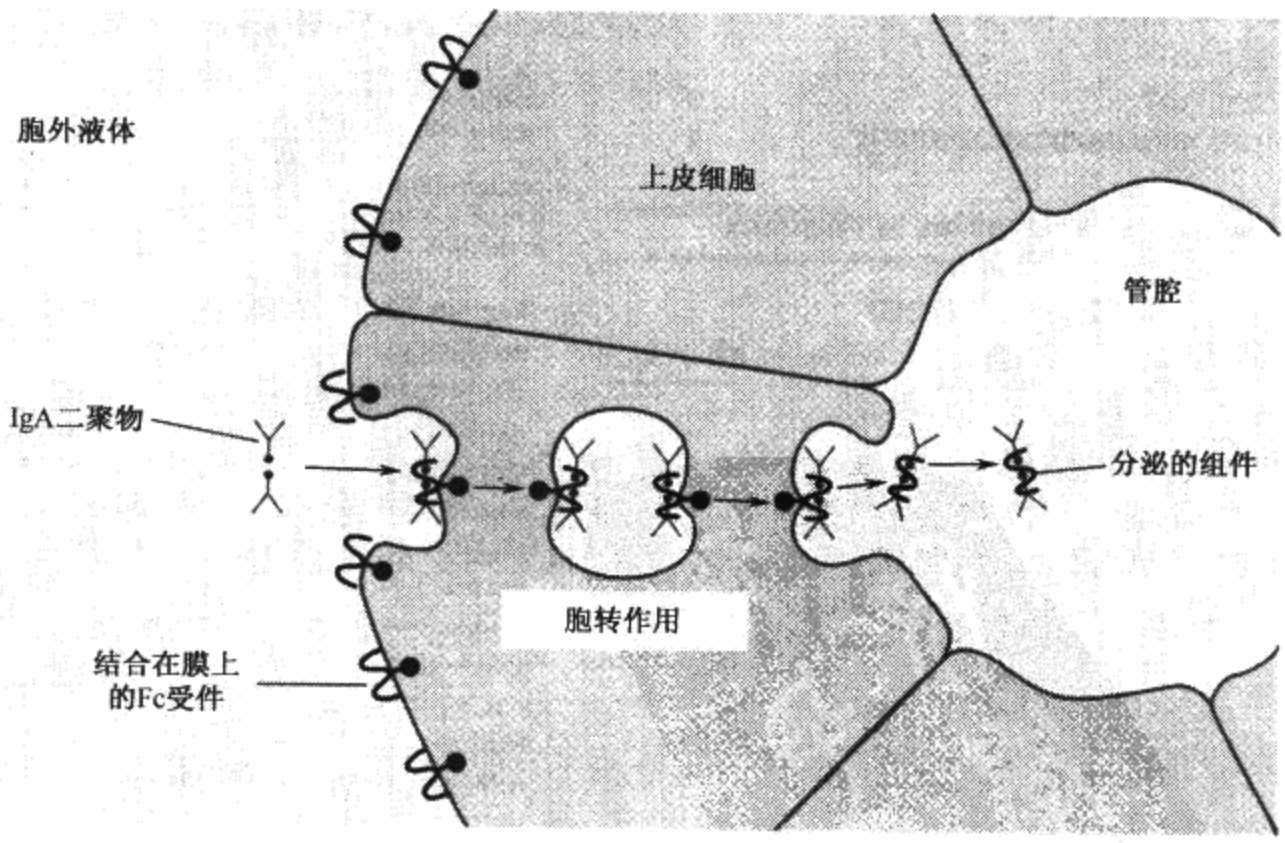


图 24-26　二聚体 IgA 分子跨上皮细胞的运输机制

IgA 分子以含 J 链的二聚体形式与分泌型上皮细胞非腔面上的跨膜受体蛋白结合。受体-IgA 复合体通过受体介导的内吞作用被摄入，在囊泡中转运横过上皮细胞胞质，并通过胞吐作用分泌到细胞另一侧的腔中。当暴露于腔中时，与 IgA 二聚体结合的 Fc 受体蛋白的一部分从其跨膜尾被切除，从而以图 24-25 所示的形式释放抗体。图中没有显示 J 链

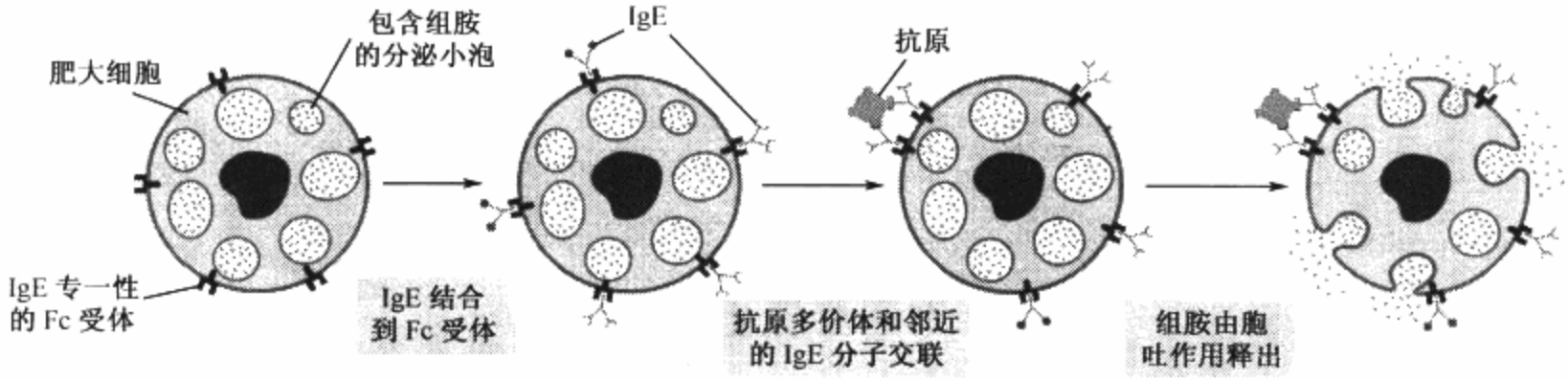


图 24-27　IgE 在肥大细胞分泌组织胺中的作用

IgE 分子从活化 B 细胞中分泌出来后，肥大细胞（或嗜碱性粒细胞）即与之结合。可溶性 IgE 分子与肥大细胞表面的 Fc 受体蛋白结合。结合的 IgE 分子充当抗原的细胞表面受体。因此，与 B 细胞不同，每个肥大细胞（或嗜碱性粒细胞）都有一套具有许多抗原结合位点的细胞表面抗体。当抗原分子结合这些膜结合 IgE，以便使之与邻近 IgE 分子交联时，它就给肥大细胞发信号，通过胞吐作用释放组织胺和其他局部介质

体分子总是含有完全相同的轻链和完全相同的重链。例如，一个 IgG 分子可能有 κ 轻链或者 λ 轻链，而不是其中之一。由于这种对称性，抗体的抗原结合位点总是完全相同。这种对称性对分泌型抗体的交联功能是至关重要的（图 24-19）。

表 24-1 小结了各种不同的人抗体的特性。

表 24-1　5 大类人抗体的特性

特性	抗体类别				
	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
重链	μ	δ	γ	α	ε
轻链	κ或λ	κ或λ	κ或λ	κ或λ	κ或λ
四链单位的数目	5	1	1	1或2	1
血液中总 Ig 的百分比	10	<1	75	15	<1
激活补体	++++	−	++	−	−
穿过胎盘	−	−	+	−	−
与巨噬细胞和中性粒细胞结合	−	−	+	−	−
与肥大细胞和嗜碱性粒细胞结合	−	−	−	−	+

抗原抗体相互作用强度依赖于抗原结合位点的数目和亲和力

像底物与酶的结合一样，抗原与抗体的结合也是可逆的。它通过许多相对弱的非共价力介导，包括氢键、疏水范德华力和离子相互作用。只有当抗原分子足够靠近允许一些原子安插在抗体表面的互补凹槽，这些弱力才是有效的。四链抗体单位的互补区是它两个完全相同的抗原结合位点；抗原上的相应区域是抗原决定簇（antigenic determinant）（图 24-28）。大多数抗原性大分子有许多不同的抗原决定簇，因而就说它们是多价体（multivalent）；如果两个或两个以上是完全相同的（如在具有重复结构的多聚体中），那么该抗原就说成是多价的（polyvalent）（图 24-29）。

具有单个抗原决定簇的抗原（表示为 Ag）和单个抗原结合位点（表示为 Ab）之间的可逆结合反应可表达为：

$$Ag + Ab \longleftrightarrow AgAb$$

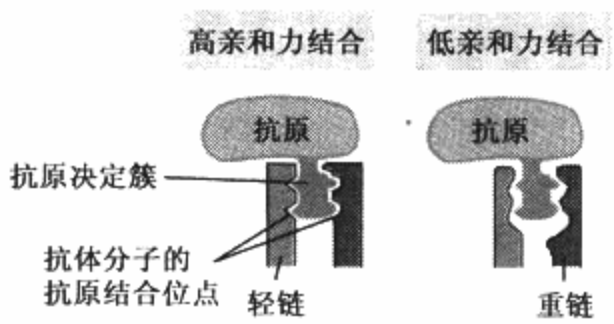


图 24-28　抗原和抗体的结合

在这一高度简化的示意图中，大分子上的抗原决定簇显示正在与两个不同抗体分子的抗原结合位点相互作用，一个具有高亲和力，另一个具有低亲和力。抗原决定簇通过各种弱非共价力被容纳在结合位点，更适合抗原的位点具有更大的亲和力。注意，抗体分子的轻链和重链通常共同组成抗原结合位点

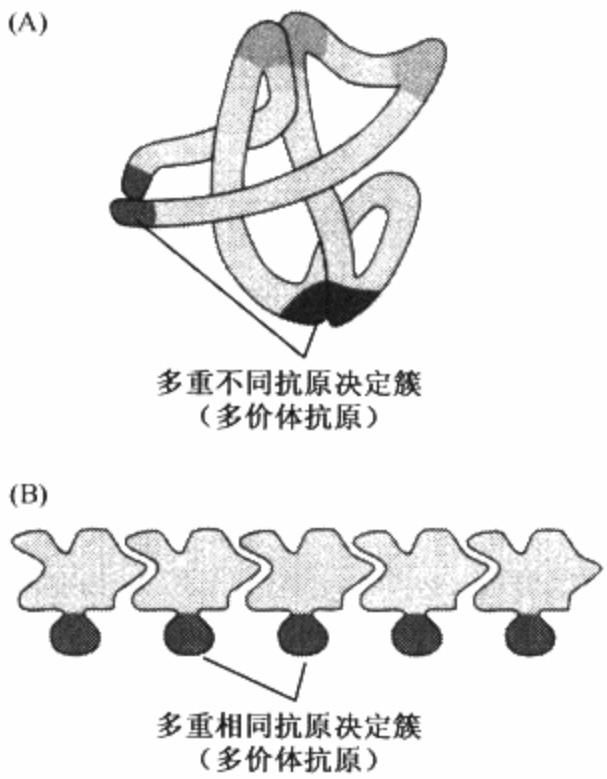


图 24-29　有多个抗原决定簇的分子

（A）显示一个有许多不同抗原决定簇的球蛋白。多肽链的不同区域通常以折叠结构聚在一起，在蛋白质表面形成抗原决定簇。（B）显示有许多完全相同的抗原决定簇的多聚体结构

平衡点依赖于 Ab 和 Ag 的浓度以及它们之间的相互作用力。很清楚，随着 Ag 浓度的上升，大部分 Ab 将会与 Ag 结合。通常，相互作用力用**亲和常数**（**affinity constant**，K_a）表示（图 3-44），其中：

$$K_a = \frac{[AgAb]}{[Ag][Ab]}$$

（方括弧表示平衡时每种成分的浓度）。

亲和常数，有时称为结合常数，可通过测量抗体分子上半数抗原结合位点被占据时游离抗原的浓度来测定。当半数位点能被占据时，[AgAb] = [Ab]，因而 $K_a = 1/[Ag]$。因此，达到最大结合价一半时的抗原浓度的倒数等于抗体对抗原的亲和常数。常见值的变化范围是 $5\times10^4 \sim 10^{11}$ L/mol。

抗体对抗原决定簇的**亲和力**（**affinity**）描述单个抗原决定簇与单个抗体结合位点之间的结合力，它与位点数目无关。然而，当一个携带相同抗原决定簇多个拷贝的多价抗原与一个多价抗体结合时，其结合力大大增加，因为在抗原和抗体解离之前所有抗原抗体之间的键必须同时被打断。结果，对于一个典型的 IgG 分子与一个多价抗原的结合，两个抗原结合位点都被占据的结合力至少比仅有一个位点被占据的结合力强 100 倍。多价抗体和多价抗原的总结合力称作相互作用的**亲合力**（**avidity**）。

如果 IgG 和 IgM 分子中抗原结合位点的亲和力相同，那么 IgM 分子（有 10 个结合位点）对多价抗原的亲合力要比 IgG 分子（有两个结合位点）大得多。这种亲合力的差异，常常为 10^4 倍或更大，是重要的，因为在免疫应答早期产生的抗体的亲合力通常比后来产生的抗体的亲和力低得多。因为总亲合力高，所以 IgM（免疫应答早期产生的主要 Ig 类型）能有效地

发挥功能，即使是它每个结合位点的亲合力都很低。

到此为止，我们讨论了抗体的一般结构和功能。接下来，我们再看其结构的细节，这通过对其氨基酸序列和三维结构的研究显示出来。

轻链和重链由恒定区和可变区组成

比较不同抗体分子的氨基酸序列揭示了一个具有重要遗传内涵的显著特性。轻链和重链在其 N 端有一段可变序列，但在其 C 端有一段恒定序列。因此，当将许多不同 κ 链的氨基酸序列进行比较时，C 端部分是相同的，或仅表现微小差异，而 N 端部分都很不相同。轻链有一个长约 110 个氨基酸的**恒定区（constant region）**和一个相同长短的**可变区（variable region）**。重链的可变区（在 N 端）也是长约 110 个氨基酸，但是重链恒定区约有 3 倍或 4 倍长（330 个或 440 个氨基酸），随类而异（图 24-30）。

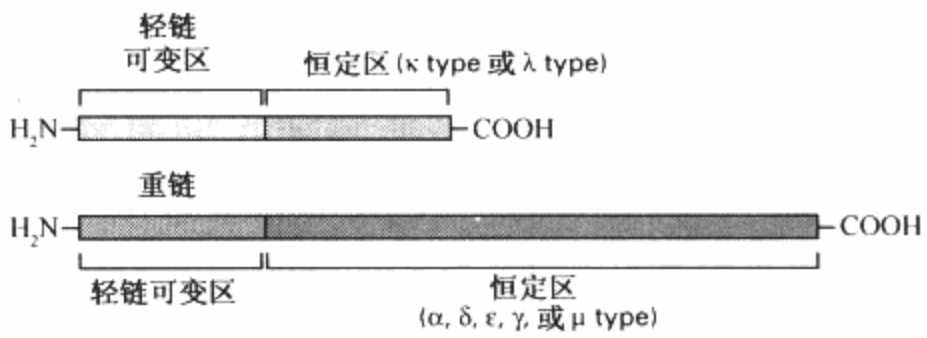


图 24-30　免疫球蛋白链的恒定区和可变区

一个抗体分子的轻链和重链有明显不同的恒定区和可变区

聚在一起形成抗原抗体结合位点的是轻链和重链的 N 端（图 24-21），其氨基酸序列的可变性为抗原结合位点的多样性提供了结构基础。轻链和重链可变区的多样性在极大程度上被局限于每条链的三个小**超变区（hypervariable region）**；可变区的余下部分被称为框架区（framework region），是相对恒定的。每个超变区中仅 5～10 个氨基酸形成抗原结合位点（图 24-31）。因此，抗体识别的抗原决定簇的大小通常相对较小。它可能由不到 25 个氨基酸组成如球蛋白表面。

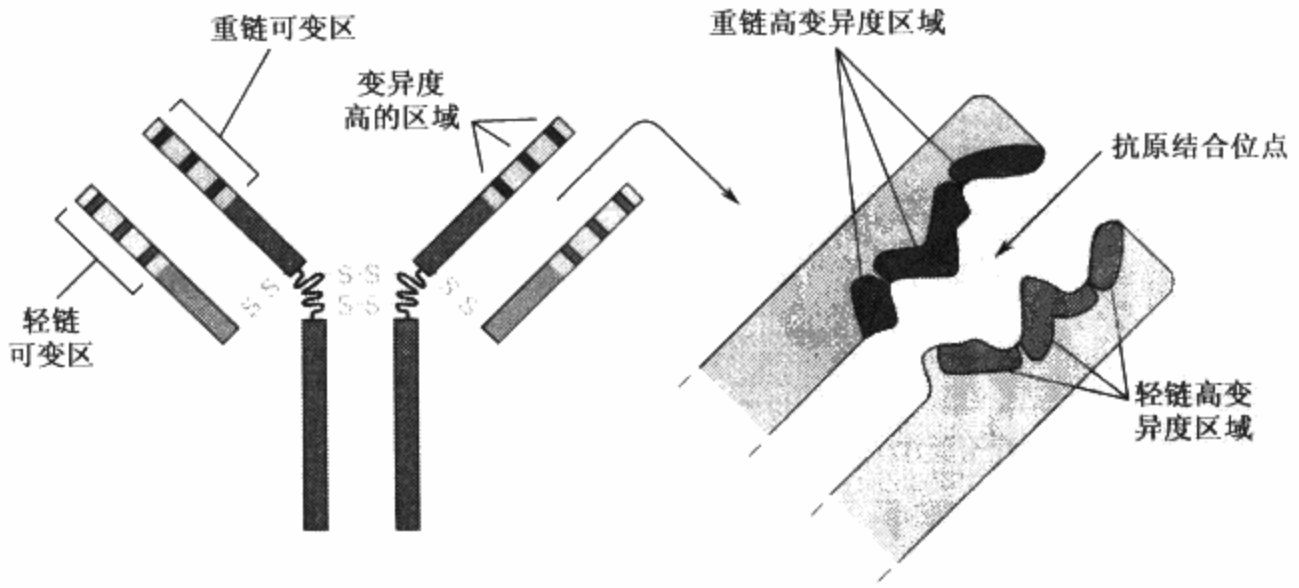


图 24-31　抗体的超变区

这一高度简化的示意图显示，每条轻链和重链中的三个超变区怎样共同形成一个抗体分子的抗原结合位点

轻链和重链由重复的 Ig 结构域组成

轻链和重链由重复片段组成——每个片段长约 110 个氨基酸，含有一个链内二硫键。这些重复片段独立折叠形成紧密的功能性结构，称为**免疫球蛋白结构域（immunoglobulin domain）**或**Ig 结构域（Ig domain）**。如图 24-32 所示，轻链由一个可变域（V_L）和一个恒定域（C_L）组成（等价于图 24-30 上半部所示的可变区和恒定区）。这些结构域与重链的可变区（V_H）和第一个恒定区（C_H1）配对形成抗原结合区。重链的余下恒定结构域形成 Fc 区，该区域决定抗体的其他生物学特性。大多数重链有 3 个恒定区（C_H1、C_H2 和 C_H3），但是 IgM 和 IgE 抗体有 4 个恒定区。

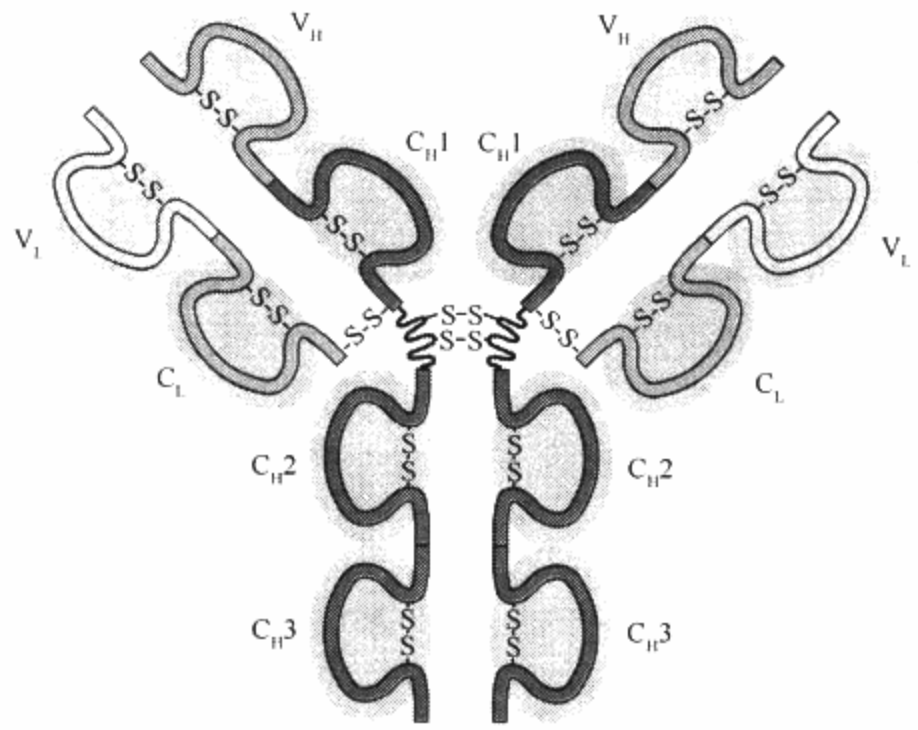


图 24-32　免疫球蛋白结构域

抗体分子中的轻链和重链均折叠成彼此类似的重复结构域。轻链和重链的可变区（蓝色）（V_L 和 V_H）组成抗原结合位点，而重链的恒定区（主要是 C_H2 和 C_H3）决定这一分子的其他生物学特性。IgM 和 IgE 抗体的重链没有绞链区，但有一个额外的恒定区（C_H4）。邻近链结构域之间的疏水相互作用对抗体分子中这些链聚集在一起具有重要作用：V_L 与 V_H 结合，C_L 与 C_H1 结合等（图 24-34）

结构域的相似性提示，抗体链是在进化过程中通过一系列的基因复制（gene duplication）而产生。开始时是一个编码 110 个氨基酸的功能未知结构域的原始基因。以下研究结果支持这一假设：重链恒定区的每个结构域由一个独立分隔开的编码序列（外显子）编码（图 24-33）。

抗原结合位点由超变环构成

许多抗体片段，与完整的抗体分子一样，都用 X 射线衍射晶体分析法研究过。从这些例子，我们能理解数十亿种不同抗原结合位点构建在一个共同结构主题上的方式。

如图 24-34 所示，每个 Ig 结构域都有以免疫球蛋白折叠（immunoglobulin fold）为基础的非常类似的三维结构。这种免疫球蛋白折叠是由两个 β 折叠通过二硫键结合在一起形成的“三明治”结构组成。我们将会在后面见到，淋巴细胞和其他细胞表面的许多不同蛋白质含有类似结构域，因而是一个极大的免疫球蛋白超家族（immunoglobulin superfamily）或 Ig 超家族（Ig superfamily）中的成员。其中许多蛋白起细胞间黏附分子的作用（讨论见第 19 章）。

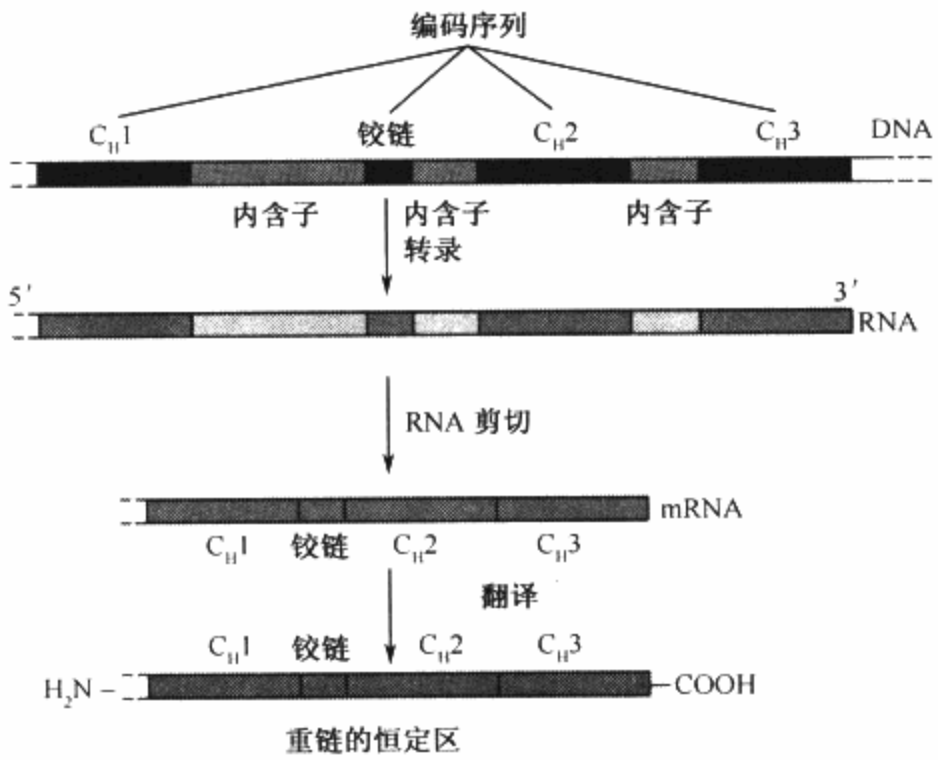


图 24-33　编码抗体重链恒定区的 DNA 序列的组织

每个结构域和绞链区的编码序列（外显子）被非编码序列（内含子）分隔开。内含子序列通过剪接 RNA 的原初转录本形成 mRNA 而被除去。DNA 中内含子的出现一般认为是有利于进化过程中产生抗体基因的 DNA 片段的意外重复（讨论见第 7 章）。图中没有显示编码重链可变区的 DNA 和 RNA 序列

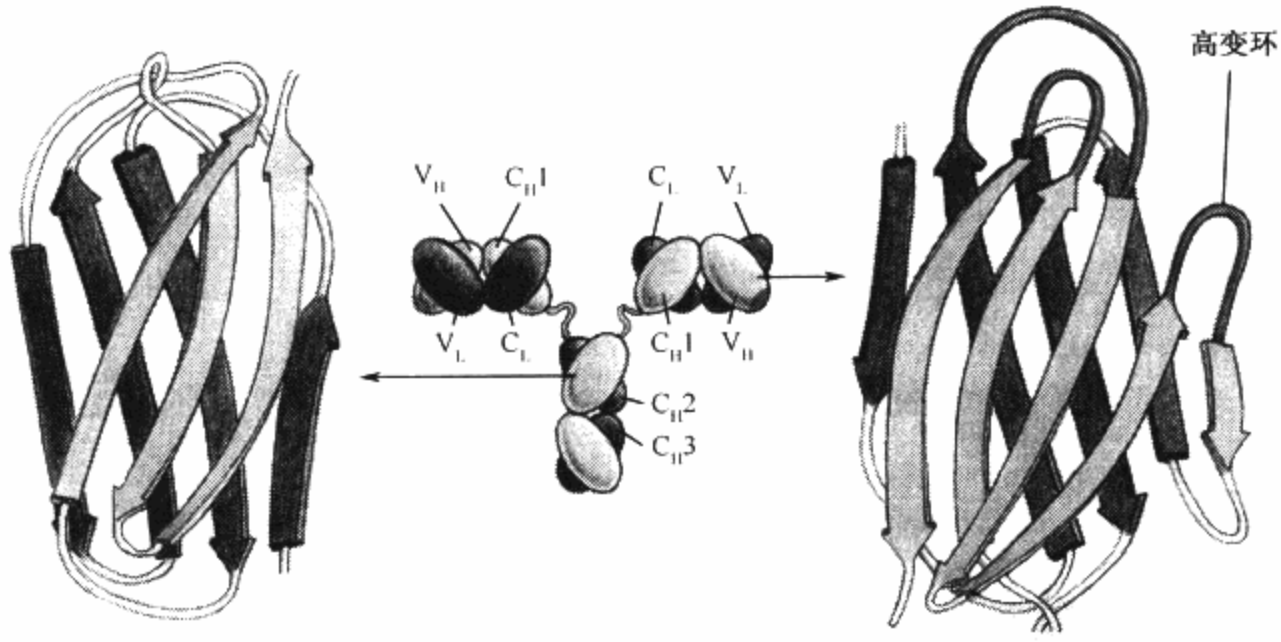


图 24-34　一个 IgG 分子的折叠结构（基于 X 射线晶体分析法的研究）

整个蛋白质的结构如中间图所示，恒定域的结构显示在左侧，可变域的结构如右侧所示。这两个结构域都由两个 β 折叠片组成，它们通过一个二硫键连接在一起（图中未显示）。注意，所有的超变区（红色）在可变域远端形成环状，它们在此共同形成抗原结合位点的一部分

抗体分子的可变域是独特的，因为每个可变域都有三个特殊的超变区，排列成三个超变环（hypervariable loop）（图 24-34）。轻链和重链可变域的超变环聚集在一起形成抗原结合位点。因为抗体分子的可变区由高度保守的刚性结构组成，其超变环附着在一端，抗原结合位点的巨大多样性可通过仅改变超变环的长度和氨基酸序列而产生。抗体功能所必需的整体三维结构仍然是恒定的。

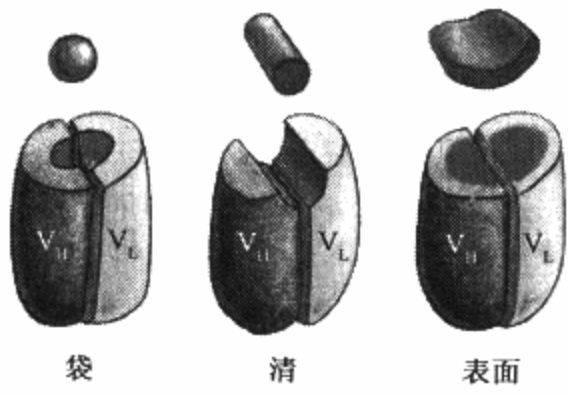


图 24-35　抗体的抗原结合位点

不同 V_L 和 V_H 结构域的超变环可组合形成许多结合面。抗原决定簇和抗体的抗原结合位点显示成红色。每个抗体仅显示一个抗原结合位点

与抗原决定簇结合的抗体片段结晶的 X 射线分析揭示，轻链和重链可变域的超变环怎样在特殊情况下严密合作形成抗原结合面。每个不同位点的尺寸和形状的改变依赖于超变环中多肽链的构象，这些构象反过来又由环内氨基酸侧链的序列来决定。结合位点的形状根据抗体的不同而有很大变化——从口袋状到沟状，较扁平的波形平面，甚至突出（图 24-35）。较小的配基易于与较深的口袋结合，而较大的配基则易于与较扁平的平面结合。另外，在与抗原结合后，结合位点能改变其形状以更好的适合配基。

既然我们讨论了抗体的结构和功能，我们就要准备考虑迷惑了免疫学家多年的一个关键问题——使我们每个人都能够制造数亿种不同抗体分子的遗传机制是什么？

小结

抗体通过使病毒和微生物失活并招募补体系统和各种不同类型的白细胞杀死入侵的病原体而使脊椎动物防御感染。典型的抗体分子呈 Y 形，有两个完全不同的抗原结合位点位于 Y 的顶端，补体成分和（或）各种不同的细胞表面受体的结合位点位于 Y 的尾部。

每个 B 细胞克隆都制造具有独特抗原结合位点的抗体分子。最初，在骨髓中的 B 细胞发育期间，抗体分子被插入质膜，在此起抗原受体的作用。在外周淋巴器官中，结合至这些受体的抗原和辅助 T 细胞提供的共刺激信号一起激活 B 细胞，使之增殖、分化成记忆细胞或分泌抗体的效应细胞。效应细胞分泌和膜结合抗体有相同抗原结合位点的抗体。

一个典型的抗体分子由 4 条多肽链组成，即两条完全一致的重链和两条完全一致的轻链。重链和轻链通常部分结合形成抗原结合位点。有 5 类抗体（IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM），每类都有一条特征性的重链（分别是 α、δ、ε、γ 和 μ）。重链还形成抗体尾（Fc 区），这一区域决定什么样的蛋白质将与抗体结合，以及这类抗体因此有何种生物学特性。任何一种轻链型（κ 或 λ）都能与任何一类重链组合，但是轻链型似乎并不影响抗体的特性，而是影响其抗原的特异性。

每条轻链和重链都由许多 Ig 结构域（含有约 110 个氨基酸的 β 折叠结构）组成。一条轻链有一个可变域（V_L）和一个恒定域（C_L），而一条重链有一个可变域（V_H）和 3 个或 4 个恒定域（C_H）。在轻链和重链可变域中的氨基酸序列变异主要局限于几个小超变区，它们以环的形式在结构域的一端突出，形成抗原结合位点。

抗体多样性的产生

即使在没有抗原刺激的情况下，一个人大概也能制造超过 10^{12} 个不同的抗体分子——免疫前抗体谱（preimmune antibody repertoire）。而且许多抗体的抗原结合位点能与许多种相关而不同抗原决定簇发生交叉反应，使得抗体的防御力更加强大。免疫前抗体谱显然足够大，以确保将有抗原结合位点适合几乎任何潜在的抗原决定簇，尽管亲和力低。经抗原反复刺激后，B 细胞能制造出以高得多的亲和力与其抗原结合的抗体——此过程被称为亲和力成熟（affinity maturation）。因此，抗原刺激大大增加了抗体库。

抗体是蛋白质，蛋白质由基因编码。因此，抗体多样性形成了一个特殊的遗传问题：一个动物怎样才能制造出比它基因组织中的基因更多的抗体？（如人类基因组含有不到50 000个基因）这个问题不及它第一次出现时那样十分可怕。回想一下，抗体轻链和重链的可变区通常形成抗原结合位点。因此，有 1000 个编码轻链的基因和 1000 个编码重链的基因的动物原则上能以 1000×1000 种不同的方式组合其产物，制造 10^6 个不同的抗原结合位点（尽管实际上不是每条轻链都能和每条重链组合产生一个抗原结合位点）。虽然如此，但是哺乳动物免疫系统已进化出独特的遗传机制，在转录前将独立的基因片段连接在一起，使之能以非常经济的方式产生几乎无限的不同轻链和重链。鸟和鱼的抗体多样性采用了很不相同的策略，甚至绵羊和兔子也采用了与小鼠和人略有不同的策略。我们会将我们的讨论局限于小鼠和人所采用的机制。

在这一节，我们首先讨论 B 细胞用于产生抗原结合位点多样性极其庞大的抗体的机制。然后，我们考虑 B 细胞怎样才能改变它所产生的抗体的尾区，而保持抗原结合位点不变。这种能力允许 B 细胞从制造膜结合抗体转变到制造分泌型抗体，或者从制造一类的抗体转变到制造另一类的抗体，却完全不改变抗体的抗原特异性。

抗体基因是在 B 细胞发育过程中由独立的基因片段组装而成

B 细胞发育期间发生 DNA 重排的第一个直接证据来自 20 世纪 70 年代进行的实验：分子

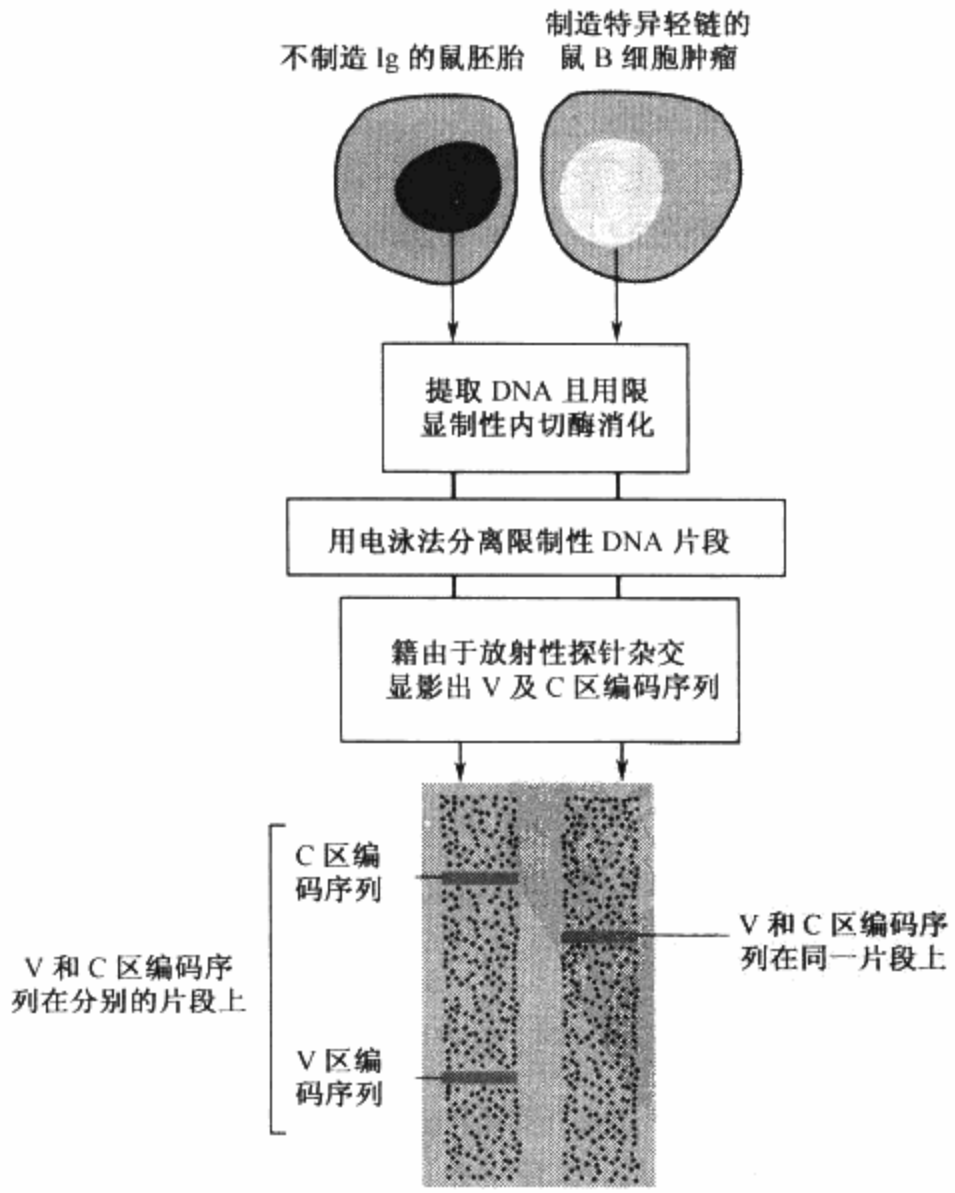


图 24-36　直接显示在 B 细胞发育期间 DNA 重排的实验过程图

B 细胞肿瘤产生于单个 B 细胞，因此产生单一种抗体分子。所用的两个放射性 DNA 探针特异于编码肿瘤细胞产生的轻链 C 区和 V 区的 DNA 序列

生物学家比较不产生抗体的小鼠早期胚胎 DNA 和产生单一一种抗体分子的小鼠 B 细胞瘤 DNA。肿瘤细胞使用的特异可变区（V 区）和恒定区（C 区）编码序列在肿瘤细胞内出现在相同 DNA 限制性片段上，而在胚胎中则出现在两条不同的限制性片段上。这表示编码抗体分子的 DNA 序列在 B 细胞发育的某个阶段发生重排（图 24-36）。

现在我们知道，每种类型的抗体链（κ 轻链、λ 轻链和重链）都有一个独立的**基因片段**和外显子（一个单一多肽链最终由此被合成）库。每个库位于不同的染色体上，含有编码抗体链 V 区的大量基因片段和少量编码 C 区的外显子（如我们在图 24-33 中所见到的）。在 B 细胞发育期间，待合成的抗体链的完全编码序列是通过位点特异的遗传重组组合而成的（讨论见第 5 章）。除了将抗体基因的独立基因片段和 C 区外显子集合到一起，这些重排还通过改变作用于启动子上的增强子和沉默子的相对位置来激活从基因启动子开始的转录。因此，一条完整的抗体链只有其 DNA 被重排后才能被合成。我们将会看到，连接基因片段的过程通过几种方式促成抗原结合位点的多样性。

每个可变区都由一个以上的基因片段编码

当首次分析编码 V 区和 C 区的基因组 DNA 序列时，发现一个单独 DNA 区域编码抗体链的 C 区（图 24-33），但是两个或更多个 DNA 区域不得不被组装用来编码每个 V 区。每个轻链 V 区由两个基因片段组装的 DNA 序列编码——一个长的 ***V* 基因片段（*V* gene segment）**或一个短的 ***J* 基因片段（*J* gene segment）**（不要与蛋白质 J 链混淆，见图 24-23，J 链是由位于基因组其他位置的 DNA 序列编码）。图 24-37 阐明了根据 C 区外显子和独立的 *V* 基因、*J* 基因片段制造人 κ 轻链多肽的遗传机制。

每个重链 V 区的编码 DNA 序列都是由 3 个基因片段——一个 *V* 基因片段、一个 *J* 基因片段和一个多样性片段或 ***D* 基因片段（*D* gene segment）**。图 24-38 显示人重链基因片段的数目与组织。

大量遗传的可用于编码抗体链的 *V*、*J*、*D* 基因对抗体多样性有重要贡献，但是这些片段的组合连接（称为组合多样化，combinatorial diversification）大大增加了这一贡献。例如，人 κ 轻链基因片段库 40 个 *V* 片段中的任何一个片段都可与 5 个 *J* 片段中的任何一个片段连接（图 24-37），结果至少有 200（40×5）个不同的 κ 链 V 区可被该库编码。同样，人重链库 51 个 *V* 基因片段中的任何一个片段都可与 6 个 *J* 片段中的任何一个片段和 27 个 *D* 基因片段中的任何一个片段连接，编码至少 8262（51×6×27）个不同的重链 V 区。

由刚讨论的遗传的 *V*、*J*、*D* 基因片段的不同组合引起的组合多样化是使抗体的抗原结合位点多样化的一个重要机制。仅通过这种机制，一个人就能产生 287 种不同 V_L 区（200 个 κ 和 116 个 λ）和 8262 个不同的 V_H 区。原则上，这些可组合成约 2.6×10^6（316 × 8262）个不同的抗原结合位点。另外，如我们下面将要讨论的，这一连接机制本身大大增加了这一可能性的数目（很可能大于 10^8 倍），使之远远大于人 B 细胞总数（约 10^{12}）。

基因片段的不精确连接大大增加了 V 区的多样性

在 B 细胞发育期间，轻链的 *V* 和 *J* 基因片段以及重链的 *V*、*D*、*J* 基因片段通过一个被称为 ***V*(*D*)*J* 连接[V(D)J joining]**的位点特异重组过程连接在一起，形成一个有功能的 V_L 区或 V_H 区编码序列。保守 DNA 序列位于每个基因片段两侧，在连接过程中起识别位点的作用，确保仅有适当的基因片段发生重组。因此，例如，一个 *V* 基因片段将总是与一个 *J* 或 *D* 基因片段连接，而不与另一个 *V* 基因片段连接。连接由一个被称为 **V(D)J 重组酶[V(D)J**

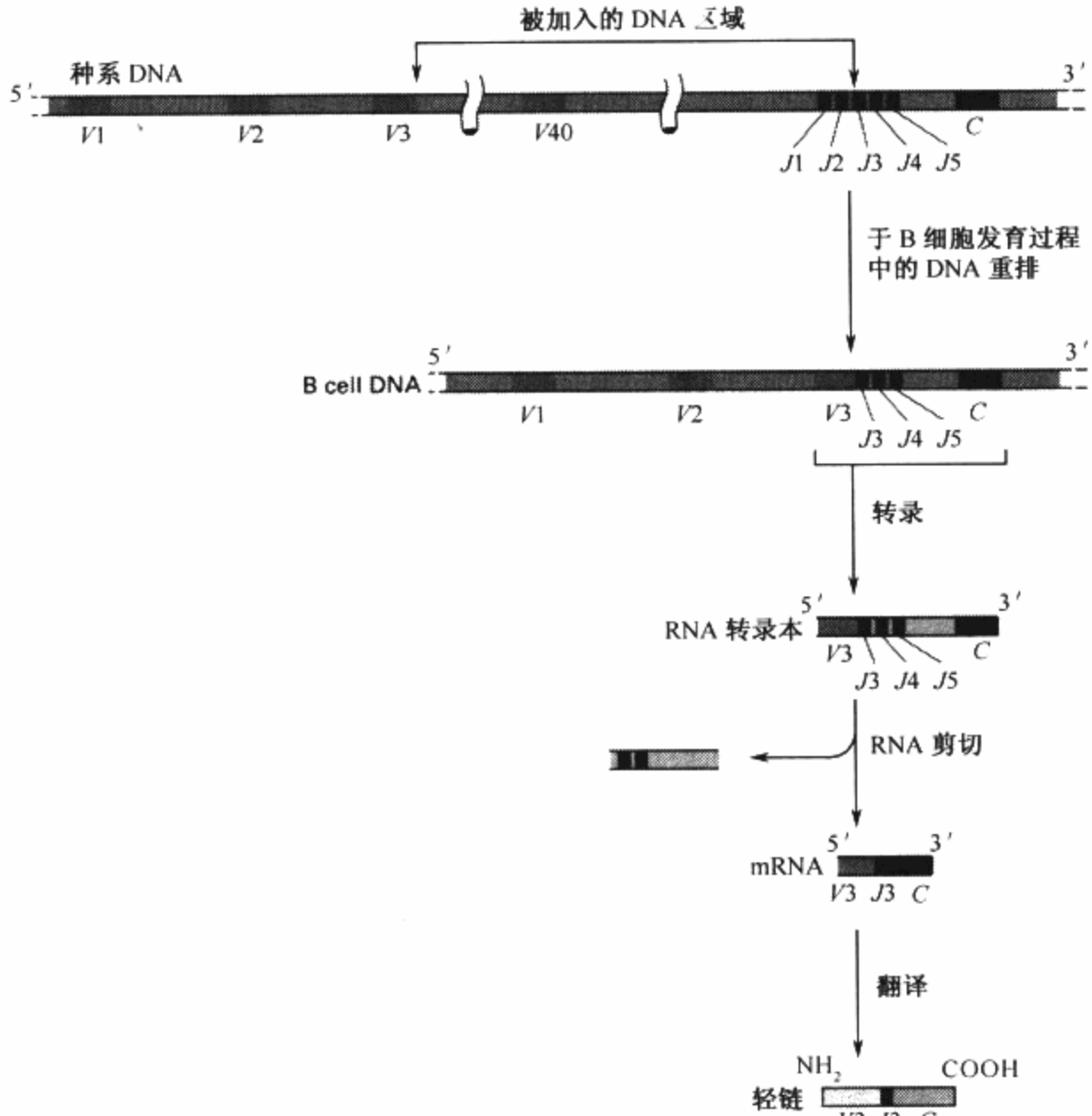


图 24-37　产生人 κ 轻链涉及 *V-J* 连接过程

在“种系”DNA 中（抗体基因此时不表达，因而不发生重排），5 个 *J* 基因片段簇被一个短内含子与 C 区外显子分隔开，还被数千对核苷酸与 40 个基因片段隔开。在 B 细胞发育过程中，随机选择的 *V* 基因片段被精确地移至其中一个 *J* 基因片段附近（此处为 *J3*）。“额外的” *J* 基因片段（（*J4* 和 *J5*）和内含子序列被转录（与连接的 *V3* 和 *J3* 基因片段和 C 区外显子一起），然后通过 RNA 剪接被除去，产生 mRNA 分子，其中 *V3*、*J3* 和 *C* 序列是紧接在一起。然后，这些 mRNA 被翻译成 κ 轻链。*J* 基因片段编码 V 区 C 端约 15 个氨基酸，*V-J* 片段连接与轻链的第三个超变区（V 区可变性最大的部分）相同

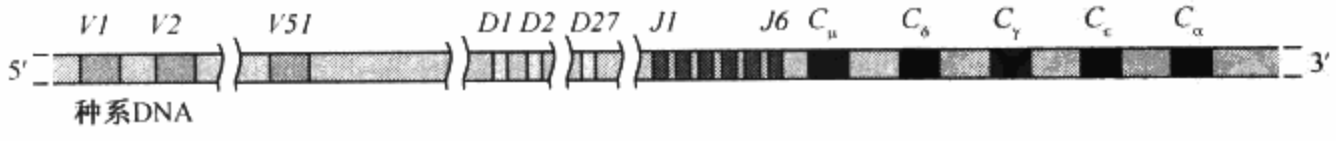


图 24-38　人的重链基因片段库

有 51 个 *V* 片段、27 个 *D* 片段、6 个 *J* 片段和一簇有序的 C 区外显子，每簇编码一类不同的重链。*D* 片段（和部分 *J* 片段）编码第三个超变区的氨基酸，这一超变区是 V 区可变性最大的部分。本图没有按比例画：重链基因位点的全长超过 2 Mb。而且，图中省略了许多细节。例如，每个 C 区都由多个外显子编码（图 24-33）；有 4 簇 C_γ 区外显子（$C_{\gamma 1}$、$C_{\gamma 2}$、$C_{\gamma 3}$ 和 $C_{\gamma 4}$），V_H 基因片段在染色体上成簇排列成几组同源家族。产生重链所涉及的遗传机制与图 24-37 中所示产生轻链的遗传机制相同，除了需要两个 DNA 重排步骤而不是一个。首先 *D* 片段与 *J* 片段连接，然后 *V* 片段与重排的 *DJ* 片段连接

recombinase]的酶复合体介导。这一复合体除含有协助修复所有细胞中受损 DNA 的酶之外，还含有特异于发育中的淋巴细胞的两个蛋白质。

V(D)J 重组酶中淋巴细胞特异的蛋白质由两个称为 *rag-1* 和 *rag-2* 的紧密连锁的基因编码（*rag* 意为重组激活基因）。RAG 蛋白（RAG protein）在两侧的 DNA 序列导入双链断裂，接着是一个由 **RAG 蛋白**和涉及通用 DNA 双链修复的酶介导的重接过程（讨论见第 5 章）。因此，如果两个 *rag* 基因在成纤维细胞中人工表达，那么成纤维细胞就能重排通过实验引入的抗体基因片段，就像一个发育中的 B 细胞通常所做的一样。而且，*rag* 基因或通用修复基因有缺陷的个体对感染高度敏感，因为它们不能实现 $V(D)J$ 连接，因而就没有功能性 B 细胞或 T 细胞（T 细胞用相同的重组酶组装那些编码其抗原特异性受体的基因片段）。

在位点特异重组的大多数情况下，DNA 连接是精确的。但是，在抗体（或 T 细胞受体）基因片段的连接过程中，许多核苷酸常常从重组基因片段末端丢失，也可能插入一个或更多个随机选择的核苷酸。核苷酸在连接位点的这种随机丢失和获得被称为**结合多样性（junctional diversification）**，它极大地增加了通过重组产生的 V 区编码序列的多样性，尤其是第三个超变区。然而，这种多样性的增加是要付出代价的。在许多情况下，它将导致可读框的移动，产生无功能基因。因为每三次这样的重排中约有两次是“非生产性的”，所以许多发育中的 B 细胞从不制造有功能的抗体分子，因而在骨髓中死亡。制造与自身抗原强烈结合的功能性抗体分子的 B 细胞受到刺激后再表达 RAG 蛋白，并经历又一轮 $V(D)J$ 重排，从而改变它们所制造的细胞表面抗体的特异性——这是一个被称为**受体编辑（receptor editing）**的过程。不能以这种方式改变其特异性的自身反应性 B 细胞通过克隆删除过程被清除（图 24-13）。

抗原驱动的体细胞突变精确调整抗体反应

正如前面提到的，随着免疫后时间的流失，通常针对免疫抗原所产生的抗体的亲和力会逐渐增加。这种现象称为**亲和力成熟（affinity maturation）**，它是由于重链和轻链 V 区编码序列中的点突变积累的结果。突变在编码区组装完成很长一段时间后才发生，在此期间，B 细胞受到抗原和辅助 T 细胞的刺激，在外周淋巴器官的淋巴样滤泡中产生记忆细胞（图 24-16）。它们的产生速率是每个细胞世代每个 V 区编码序列约有一个突变。因为这比其他基因的自然突变率约高 100 万倍，因此这一过程被称为**体细胞超突变（somatic hypermutation）**。其分子机制仍不明确，但是人们相信这与某种形式的致突变 DNA 修复过程有关。这一修复过程的目标指向重排的 V 区编码序列，它是通过被 $V(D)J$ 连接聚集在一起的特异 DNA 区域来实现的。令人惊讶的是，需要一个与 RNA 有关的酶（讨论见第 7 章），但该酶在超突变过程中的功能尚不知晓。

仅少数因超突变而改变的抗原受体对抗原的亲和力增加。然而，表达这些高亲和力受体的少数 B 细胞优先受到抗原的刺激，存活下来并得以增殖，而大部分其他 B 细胞则通过细胞凋亡而死亡。这样，由于体细胞超突变重复循环及其后由抗原驱动的记忆 B 细胞选择克隆进行增殖的结果，亲和力越来越高的抗体在免疫应答期间变得丰富起来，从而提供越来越好的防御来对抗病原体。

图 24-39 总结了抗体多样化的主要机制。

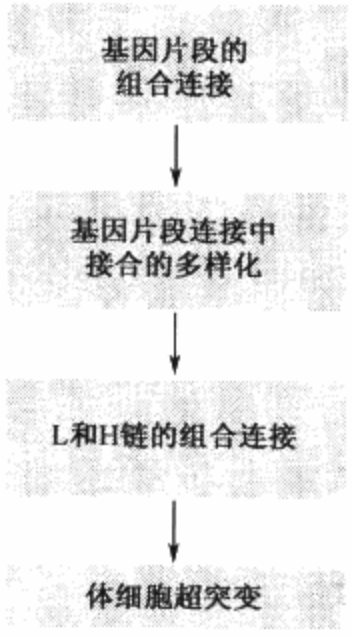


图 24-39　抗体多样化的 4 种主要机制

图示为绿色的机制发生于骨髓中（或胎儿肝脏）的 B 细胞发育过程中；图示为红色的机制发生于外周淋巴器官中，当 B 细胞受到外来抗原和辅助 T 细胞的刺激产生记忆 B 细胞时

$V(D)J$ 连接的控制保证了 B 细胞的单特异性

按照克隆选择理论预测，B 细胞是单特异性的。即，任何一个 B 细胞产生的所有抗体都有完全相同的抗原结合位点。这一特性使抗体能与抗原交联成大聚集体，因而促进抗原的清除（图 24-19）。它也意味着，一个活化 B 细胞分泌的抗体与最初被激活的 B 细胞表面的膜结合抗体有相同的特异性。

单特异性的要求意味着，每个 B 细胞仅能制造一种类型的 V_L 区和一种类型的 V_H 区。既然 B 细胞像大多数其他体细胞一样是二倍体，那么每个细胞就有 6 个编码抗体链的基因片段库：2 个重链库（每个亲本贡献一个）和 4 个轻链库（每个亲本贡献一个 κ 库和一个 λ 库）。如果 DNA 重排独立发生于每个重链库和每个轻链库，那么一个单细胞就能制造多达 8 种不同的抗体，每种抗体具有一个不同的抗原结合位点。

然而，实际上每个 B 细胞仅使用 6 个基因片段库中的两个：2 个重链库中的一个和 4 个轻链库中的一个。因此，每个 B 细胞不仅必须在其 κ 和 λ 轻链库之间选择，还必须在其父本和母本的轻链和重链库之间选择。这第二种选择被称为**等位基因排斥（allelic exclusion）**，它还发生于编码 T 细胞受体的基因的表达中。对大多数由常染色体基因编码的其他蛋白质而言，一个细胞内的母本和父本基因的表达是大致相等的。

B 细胞发育过程中等位基因排斥和 κ-λ 轻链选择依赖于 $V(D)J$ 连接过程的负反馈调控。一个基因片段库中的功能重排会抑制编码同型多肽链的所有剩余库中的重排（图 24-40）。例如，在从表达重排 μ 链基因的转基因小鼠分离的 B 细胞克隆中，内源重链基因的重排通常受到抑制。对轻链也获得了相当的结果。如果重排基因产物不能装配成一个插入质膜的受体，

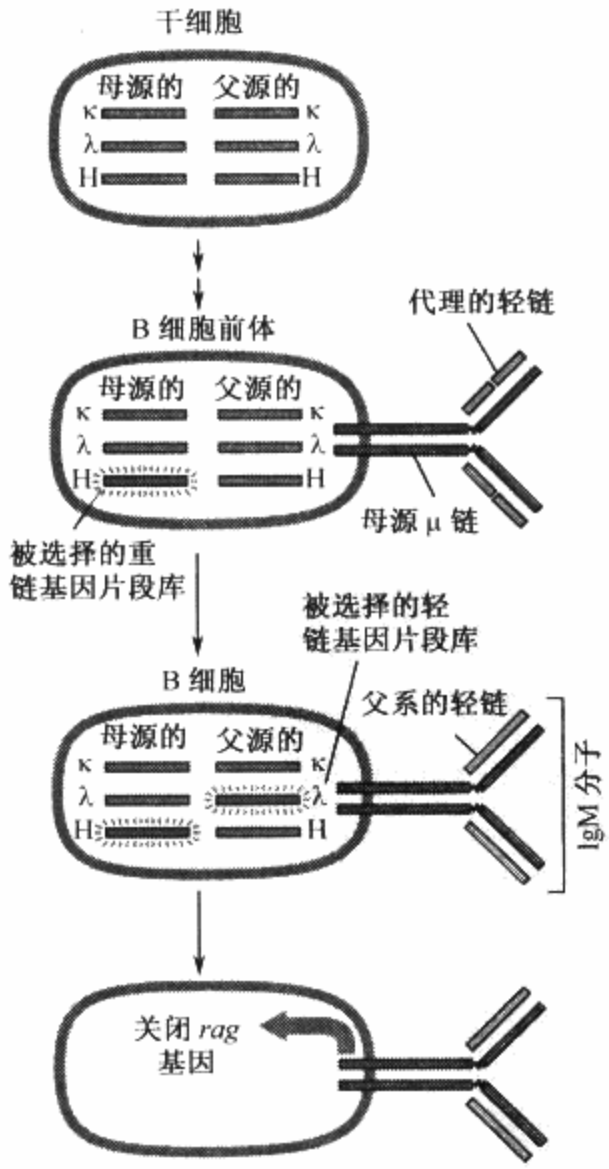


图 24-40　B 细胞发育过程中抗体基因库的选择

只有一种类型的抗原决定簇的抗体，发育中的 B 细胞必须只使用一个 L 链基因片段库和一个 H 链基因片段库。尽管在母本库和父本库之间的选择一般认为是随机的，但是在一个发育 B 细胞中的 V 区编码序列的装配却是有序进行的，每次一个装配片段，通常从重链库开始。在这个库中，D 片段首先与两个亲本染色体上的 J_H 片段连接；然后 V_H 与 DJ_H 的连接发生于其中一条染色体上（图中未显示）。如果这一重排产生一个功能基因，那么由此而产生的完整 μ 链（总是第一条重链）导致它们在细胞表面表达，并与代轻链结合。此时，细胞停止 V_H 区编码基因片段的进一步重排，并启动 V_L 重排。尽管图中没有显示，但是 V_L 重排通常首先在 κ 基因片段库发生。只有这一重排失败后，才在另一个 κ 库或 λ 库中发生重排。如果在任何阶段，“同相的” V_L 与 J_L 的连接导致产生轻链，那么这些轻链与预存 μ 链结合，形成 IgM 抗体分子，并插入质膜。一般认为，IgM 的细胞表面受体使新形成的 B 细胞接收胞外信号，通过关闭 *rag-1* 和 *rag-2* 基因的表达，停止进一步发生 $V(D)J$ 连接。如果一个发育中的 B 细胞产生一个识别自身抗原的受体，那么它就会被刺激再表达 *rag* 基因，并进行另一轮 $V(D)J$ 连接（称为受体编辑），从而改变其受体的特异性（图中未显示）。如果一个细胞不能装配一个功能性的 V_H 编码序列和一个功能性的 V_L 编码序列，那么它就不能产生抗体分子，并通过细胞凋亡而死亡（图中未显示）

那么抑制就不会发生。因此提出，受体的装配过程本身或者作用于受体的胞外信号与抑制基因的进一步重排有关。

尽管在 κ 和 λ 轻链的恒定区之间没有发现生物学差异，但是存在两个独立的编码轻链可变区的基因片段库还是有优势的。两个独立库的存在增加了一个已经成功装配了 V_H 区编码序列的前 B 细胞将继续成功装配 V_L 区编码序列以便成为一个 B 细胞的机会。因为在一个发育中的前 B 细胞产生常见轻链之前，它制造代用轻链（图 24-22），并与 μ 型重链组装，所以进一步增加了这种机会。由此产生的受体被展示在细胞表面，并允许细胞进行增殖，产生大量子代细胞，其中一些有可能成功产生真正的轻链。

被抗原激活后，B 细胞从制造膜结合抗体转变成制造分泌型的相同抗体

现在，我们从决定一个抗体的抗原结合位点的遗传机制转向决定其生物学特性的遗传机制，即决定合成哪种形式的重链恒定区的机制。编码抗原结合位点的特殊基因片段的选择保证了 B 细胞及其后代的生存，但是产生的 C_H 区的类型在 B 细胞发育期间发生变化。这些变化有两种类型：从膜结合型到相同 C_H 区分泌型的变化和 C_H 区类型的变化。

所有类型的抗体都能以膜结合型和可溶性分泌型两种形式制造。膜结合型起 B 细胞表面抗原受体的作用，而可溶型只有在细胞受到抗原刺激变成分泌抗体的效应细胞之后才生产（图 24-17）。这两种形式之间的唯一区别在于重链的 C 端。膜结合抗体分子的重链有一个疏水的 C 端，它将抗体分子锚定在 B 细胞质膜的脂双层中。相反，分泌型抗体分子的重链有一个亲水的 C 端，它允许抗体分子从细胞中释放出来。因为 B 细胞被抗原的激活（和辅助 T 细胞）诱导核内重链 RNA 被转录和加工的方式的转变（图 7-93），所以抗体分子的特性发生转换。

B 细胞能转换它们所制造的抗体的类

在 B 细胞发育期间，许多 B 细胞从制造一类抗体转换成制造另一类抗体，该过程称为**类转换（class switching）**。所有 B 细胞合成抗体的生涯是从制造 IgM 抗体并将它们插入质膜作为抗原的受体开始。在 B 细胞离开骨髓后与抗原相互作用之前，它们转换并制造 IgM 和 IgD 分子，用作膜结合抗原受体，二者具有相同的抗原结合位点（图 24-22）。借助抗原和辅助 T 细胞的刺激，其中一些细胞被激活分泌 IgM 抗体，该抗体控制初次免疫应答。在免疫应答较后阶段，抗原和辅助 T 细胞分泌的细胞因子联合诱导许多 B 细胞转换成生产 IgG、IgE 或 IgA 抗体。这些细胞产生在其表面表达相应种类抗体分子的记忆细胞和分泌抗体的效应细胞。IgG、IgE 或 IgA 抗体统称为抗体的次级类（secondary class），因为它们的产生是在受到抗原刺激后，还因为它们负责次级抗体应答。如我们先前见到的一样，每种不同类的抗体以不同的方式在不同的位点专门用来攻击微生物。

抗体重链恒定区决定抗体的类（class）。因此，B 细胞在不改变抗原结合位点的情况下转换它们所产生的抗体的类的能力，暗示已装配的相同 V_H 区编码序列（指定重链的抗原结合部分）能与不同的 C_H 编码序列结合。这有重要的功能含义。它意味着，在一个动物个体中，环境抗原所选择的特殊抗原结合位点可存在于各种不同类的抗体中，从而获得每类所具有的不同生物学特性。

当一个 B 细胞从制造 IgM 和 IgD 转换到制造某次级类的抗体时，在 DNA 水平的不可逆改变就发生了，该过程称为种类转换重组（class switch recombination）。它必须删除位于装配的 VDJ 编码序列和特殊 C_H 编码序列（这些序列细胞注定要表达）之间的所有 C_H 编码序

列（图 24-41）。转换重组有几个方面不同于 $V(D)J$ 连接：①它仅涉及非编码序列，因而编码序列不受影响；②它使用不同的侧翼重组序列和不同的酶；③它在受到抗原刺激后发生；④它依赖于辅助 T 细胞。

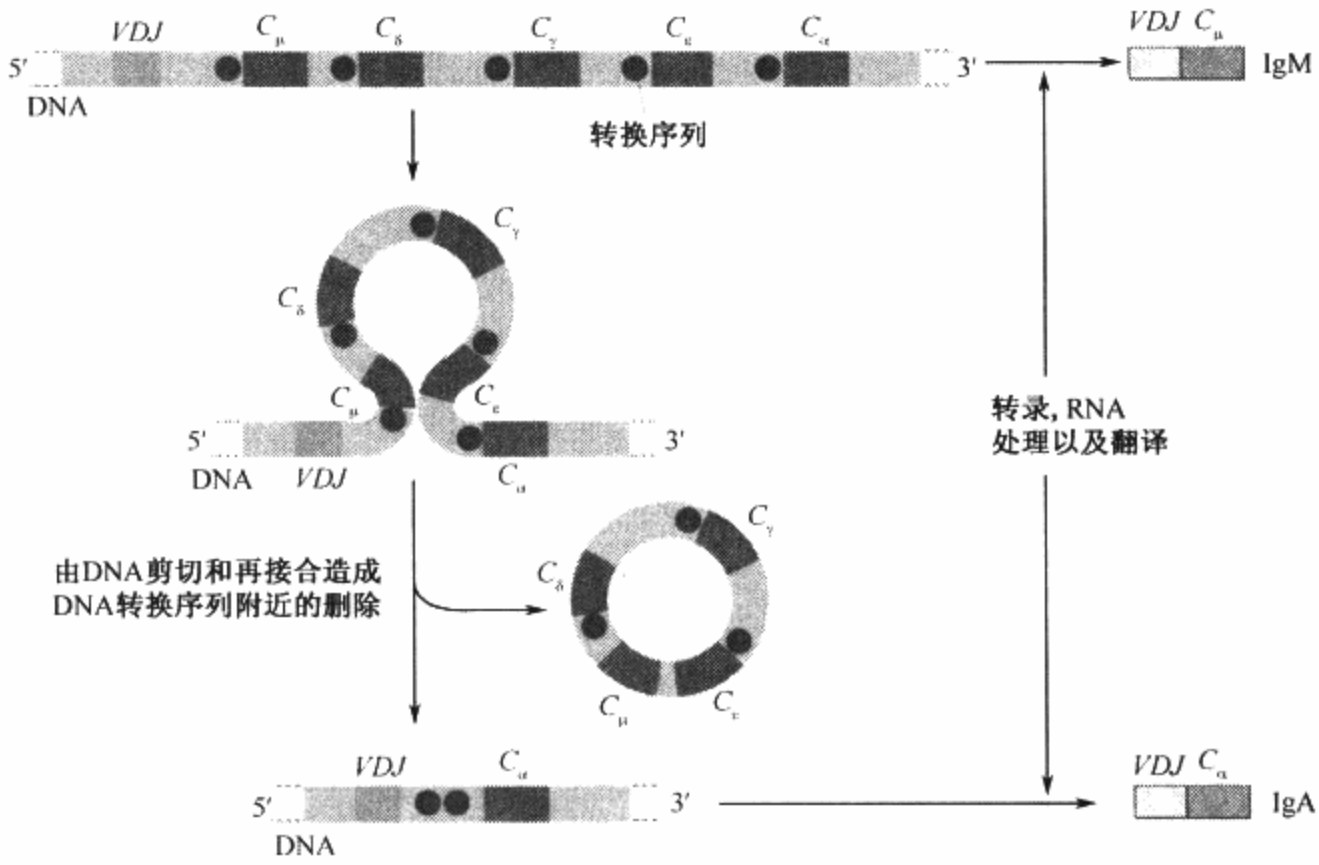


图 24-41　在类别转换重组中发生的 DNA 重排的一个例子

一个从装配的 *VDJ* DNA 序列产生 IgM 抗体的 B 细胞受到抗原和辅助 T 细胞产生的细胞因子的刺激，转换为产生 IgA 抗体。在此过程中，它删除 *VDJ* 序列和 C_α 编码序列之间的 DNA。位于每个 C_H 编码序列上游的特殊 DNA 序列（转换序列，switch sequence）彼此重组，删除间插 DNA。一般认为，类别转换重组由一种转换酶（switch recombinase）介导，当在细胞因子的影响下有适当的转换序列可接近时，该酶就会直接指向转换序列，关于这一点我们稍后讨论

小结

抗体是从三个基因片段和外显子库产生的：一个库编码 κ 轻链，一个库编码 λ 轻链，一个库编码重链。在每个库中，编码轻链和重链可变区不同部分的独立基因片段在 B 细胞发育期间通过位点特异性重组聚集在一起。轻链库含有一个或多个恒定（C）区外显子及数组可变（*V*）基因片段和连接（*J*）基因片段。重链库含有数组 C 区外显子及数组 *V* 基因片段、多样性（*D*）基因片段和 *J* 基因片段。

为产生一个抗体分子，一个 V_L 基因片段与一个 J_L 基因片段重组，产生一个编码轻链 V 区的 DNA 序列；一个 V_H 基因片段与一个 *D* 基因片段和一个 J_H 基因片段重组，产生一个编码重链 V 区的 DNA 序列。然后，每个装配的 V 区编码序列与适当的 C 区序列共转录，产生一个编码完整多肽链的 RNA 分子。产生功能性重链和轻链的细胞关闭 $V(D)J$ 连接过程，以确保每个 B 细胞仅产生一种抗原结合位点。

通过随机组合编码 V_L 区和 V_H 区的遗传基因片段，人能产生数百种不同的轻链和数千种不同的重链。因为抗原结合位点是在终抗体中 V_L 和 V_H 超变环的聚集处形成，所以重链和轻链能够配对，形成具有数百万种不同抗原结合位点的抗体。由于在基因片段连接处核苷酸的丢失和获得，以及受到抗原和辅助 T 细胞刺激后在装配的 V 区编码序列中以极高频率发生的体细胞突变，这一数目得到极大增加。

最初，所有B细胞产生IgM抗体，大多数还产生IgD抗体。后来，许多细胞转换并产生其他种类的抗体，但其抗原结合位点与最初的IgM和IgD抗体的抗原结合位点相同。这种类别转换依赖于抗原刺激和辅助T细胞，它允许相同抗原结合位点分布于具有不同生物学活性的抗体中。

T细胞和MHC蛋白

T细胞的种种应答统称为细胞介导的免疫反应（cell-mediated immune reaction），这是为了将它们与抗体应答相区别，当然，后者也依赖于细胞（B细胞）。与抗体应答一样，T细胞应答也具有强烈的抗原特异性，它们在使脊椎动物防御感染方面和抗体至少是同样重要。确实，大多数获得性免疫应答，包括抗体应答，都需要辅助T细胞启动。最重要的是，与B细胞不同，T细胞能协助清除隐藏在宿主体内的病原体。本章其余部分多数与T细胞怎样完成这一功能有关。

T细胞应答至少在两个重要方面与B细胞应答不同。第一，只有当抗原被展示在外周淋巴器官中的抗原呈递细胞表面时，T细胞才被外来抗原激活，以便增殖、分化成效应细胞。T细胞通过这种方式应答是因为，它们识别的抗原的形式不同于B细胞的识别的抗原形式。B细胞识别完整抗原，而T细胞则识别在抗原呈递细胞内部分降解的蛋白质抗原片段。然后这些肽段与被称为MHC蛋白的特殊分子结合，并被输送至呈递细胞表面，MHC将这些片段呈递给T细胞。第二个差异是，一旦被激活，效应T细胞就只在小范围内起作用，或者在次级淋巴器官，或者在它们移行进入感染位点后。它们和体内的另一个细胞直接相互作用，或者将这一细胞杀死，或者通过某种方式给这一细胞发送信号（我们称这种细胞为靶细胞）。相反，激活的B细胞分泌能在远处发挥作用的抗体。

T细胞有两种主要类型：细胞毒T细胞（cytotoxic T cell）和辅助T细胞（helper T cell）。细胞毒T细胞直接杀死被病毒或其他一些胞内病原体感染的细胞。相反，辅助T细胞帮助刺激其他细胞的应答——主要是巨噬细胞、B细胞和细胞毒T细胞。

在本节，我们叙述这两类T细胞及其各自的功能。我们讨论它们怎样识别抗原呈递细胞和靶细胞表面的外来抗原，并考虑MHC蛋白在识别过程中所起的关键作用。最后，我们叙述T细胞怎样在其胸腺发育期间被选择，以确保仅有潜在有用受体的细胞存活并成熟。我们从考虑T细胞用于识别抗原的细胞表面抗原受体的性质开始本节。

T细胞受体是类抗体异二聚体

因为T细胞应答依赖于与抗原呈递细胞或靶细胞的直接接触，所以T细胞产生的抗原受体与B细胞产生的抗体不同，它们仅以膜结合形式存在，且不分泌。由于这一原因，T细胞受体难以分离，直到20世纪80年代，它们才首先通过生化手段得以鉴定。细胞毒T细胞和辅助T细胞上的受体类似于抗体，它们由两条通过二硫键连接的多肽链组成（称为α和β），每条含有两个类Ig结构域，一个可变域和一个恒定域［图24-42（A）］。而且，T细胞受体胞外部分的三维结构的X射线衍射测定结果表明，它看起来很像Y形抗体分子的一个壁［图24-42（B）］。

编码α和β链的基因片段库位于不同的染色体上。与抗体的重链库类似，T细胞受体库含有独立的*V*、*D*、*J*基因片段，它们在胸腺的T细胞发育过程中通过位点特异重组聚集在一起。有一个例外，B细胞用于产生抗体多样性的所有机制也被T细胞用于产生T细胞受体

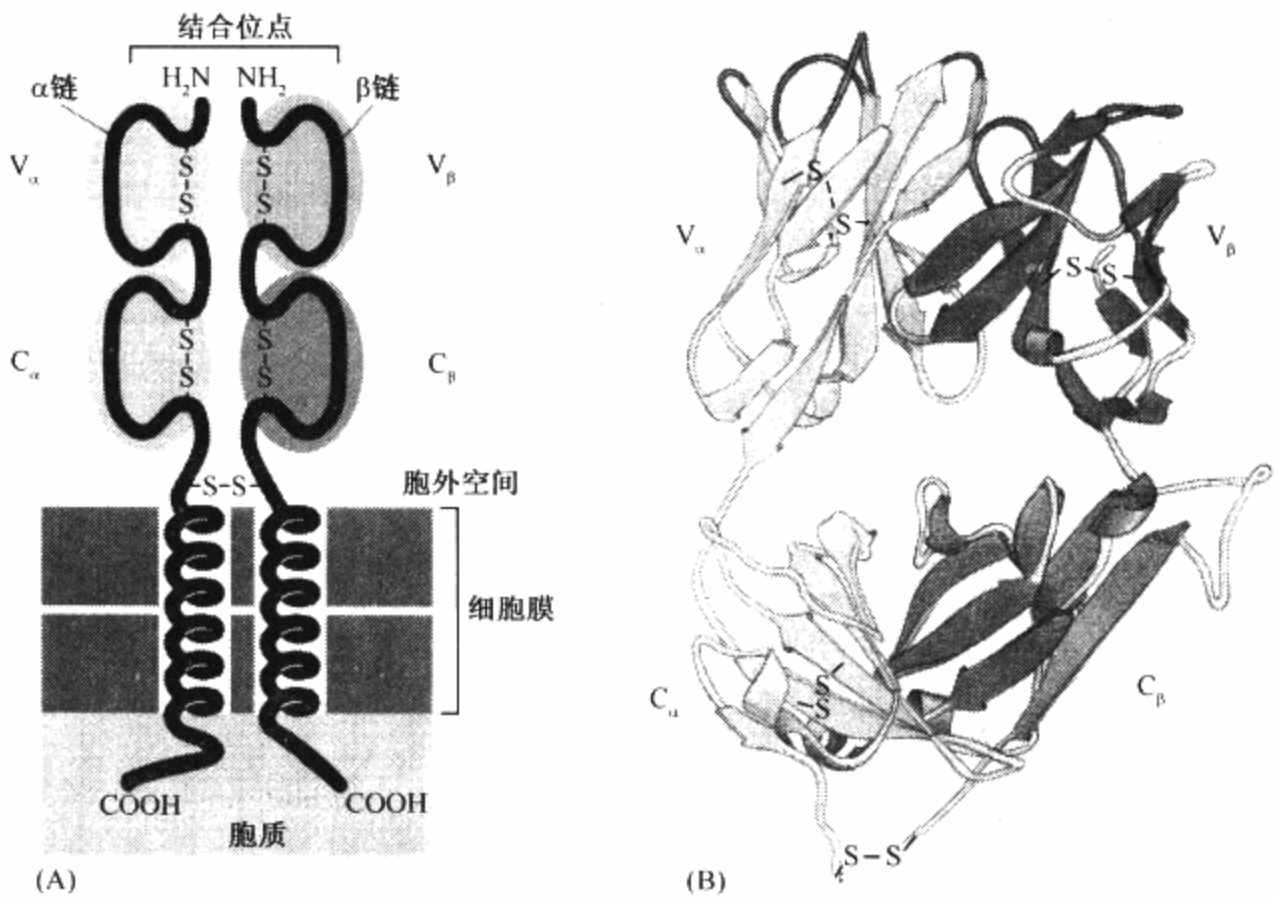


图 24-42　一个 T 细胞受体异二聚体

（A）这个示意图显示，受体由一条 α 多肽链和一条 β 多肽链组成。每条链长约 280 个氨基酸，一个大的细胞外区域折叠成两个类 Ig 结构域——一个可变结构域（V）和一个恒定结构域（C）。抗原结合位点由一个 V_α 结构域和一个 V_β 结构域（蓝色）。与抗体（有两个抗原结合位点）不同，T 细胞受体只有一个抗原结合位点。αβ 异二聚体与一大组不变的膜结合蛋白非共价结合（图中未显示），当 T 细胞受体与抗原结合时，帮助激活 T 细胞。一个典型 T 细胞在其表面有约30 000个这样的受体复合体。（B）T 细胞受体胞外部分的三维结构。抗原结合位点由 V_α 和 V_β 结构域的超变环（红色）形成，它的外形尺寸和几何形状类似于抗体分子的抗原结合位点［（B）根据 K. C. Garcia et al., *Science* 274: 209～219, 1996］

多样性。确实，它们用到相同的 V(D)J 重组酶，包括前面讨论过的 RAG 蛋白。在 T 细胞受体多样化中不起作用的机制是抗原驱动的体细胞超突变。因此，受体的亲和力仍然低（$K_a \approx 10^5 \sim 10^7$ L/mol），甚至在免疫应答后期。稍后，我们讨论各种共受体和细胞间黏着机制怎样大大增强 T 细胞与抗原呈递细胞或靶细胞的结合，协助补偿 T 细胞受体的低亲和力。

一小部分 T 细胞产生一类不同但相关的受体异二聚体，由 γ 和 δ 链组成，而不是产生 α 和 β 链。这些细胞在发育早期出现，主要在上皮组织中（如皮肤和消化道）发现。它们的功能不明确，因而我们将不做进一步讨论。

同 B 细胞上的抗原受体一样，T 细胞受体在质膜中与许多不变的膜结合蛋白紧密相连，这些蛋白质与信号从抗原激活受体传递至细胞内部有关。稍后，我们会更详细的讨论这些蛋白质。然而，首先我们必须考虑细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞怎样起作用以及它们识别外来抗原的特殊方式。

抗原呈递细胞激活 T 细胞

在细胞毒 T 细胞或辅助 T 细胞杀死或帮助各自的靶细胞之前，它们必须被激活，以便增殖、分化成效应细胞。这种激活发生于外周淋巴器官的**抗原呈递细胞**表面，其表面展示有与 MHC 蛋白形成复合体的外来抗原。

在外周淋巴器官中，能激活 T 细胞的抗原呈递细胞有三种主要类型——树突状细胞、巨

噬细胞和 B 细胞。这些细胞中最有效的是**树突状细胞**（图 24-43），它的唯一功能就是将外来抗原呈递给 T 细胞。未成熟的树突状细胞位于全身的组织中，包括皮肤、消化道和呼吸道。当树突状细胞在这些位点遇到入侵的微生物时，就内吞病原体或其产物，并将它们通过淋巴运送至局部淋巴结或消化道相关淋巴器官。和病原体的相遇诱导树突状细胞从一个抗原捕获细胞发育成熟为一个能激活 T 细胞的抗原呈递细胞（图 24-5）。

抗原呈递细胞在其表面展示有三类在激活 T 细胞成为效应细胞中起作用的蛋白质分子：①MHC 蛋白，将外来抗原呈递给 T 细胞受体；②共刺激蛋白，与 T 细胞表面的互补受体结合；③细胞间黏着分子，能使 T 细胞与抗原呈递细胞的结合时间长到足以被激活（图 24-44）。

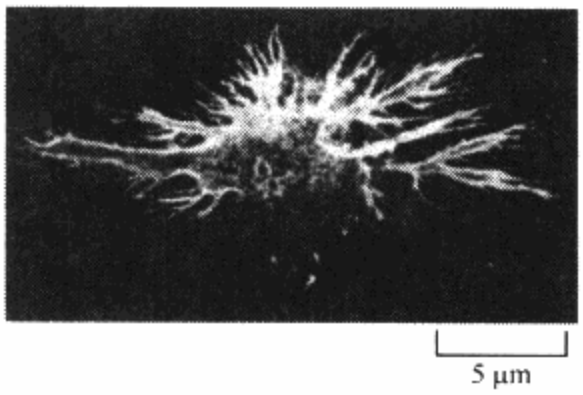


图 24-43　培养中的树突状细胞的免疫荧光显微照片

这些关键的抗原呈递细胞的名称来源于它们的长突起或“树突”。这些细胞用识别这些细胞的表面抗原的单克隆抗体标记（经 of David Katz 许可）

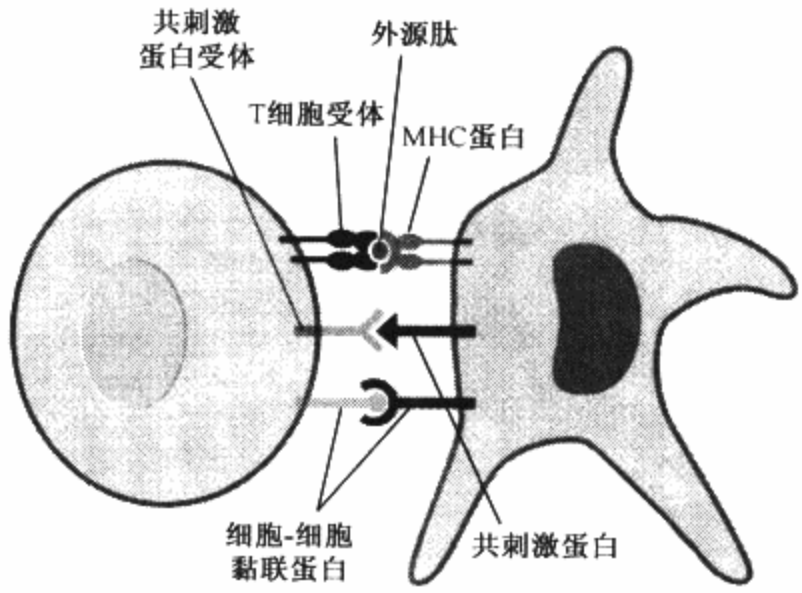


图 24-44　与 T 细胞激活有关的抗原呈递细胞表面的三类蛋白质

图中未显示与 T 细胞受体稳定结合的不变多肽链

在讨论 MHC 蛋白在传递抗原给 T 细胞中的作用之前，我们考虑两种主要类型 T 细胞的功能。

细胞毒效应 T 细胞诱导受感染的靶细胞自杀

细胞毒 T 细胞提供保护对抗胞内病原体，如病毒和一些在宿主细胞的胞质中繁殖的细菌与寄生虫（病原体在胞内可免受抗体的攻击）。它们提供这种保护是通过在微生物能增殖并逃离受感染的细胞进而感染邻近细胞之前杀死受感染的细胞。

一旦细胞毒 T 细胞被一个受感染的抗原呈递细胞激活而成为一个效应细胞，它就能杀死任何一个感染了相同病原体的靶细胞。当效应 T 细胞识别受感染的靶细胞表面的微生物抗原时，它就将其分泌装置集中在靶细胞上。我们可通过研究与靶结合的效应 T 细胞来观察这一行为：当用抗微管蛋白抗体标记 T 细胞的中心体时，可看到中心粒定向于与靶细胞的接触点（图 24-45）。而且，抗体标记显示，帮助连接细胞表面受体和皮层肌动蛋白丝的踝蛋白和其他蛋白质集中在接触位点处 T 细胞皮层中。T 细胞受体在接触位点处的聚集显然导致了细胞皮层中肌动蛋白丝的局部改变。然后，一个依赖于微管的机械装置将中心粒及其相关的高尔基体推动至接触位点，从而将杀灭装置集中于靶细胞。当一个辅助 T 细胞与一个靶细胞发生功能相互作用时，可见到类似的细胞骨架极化。

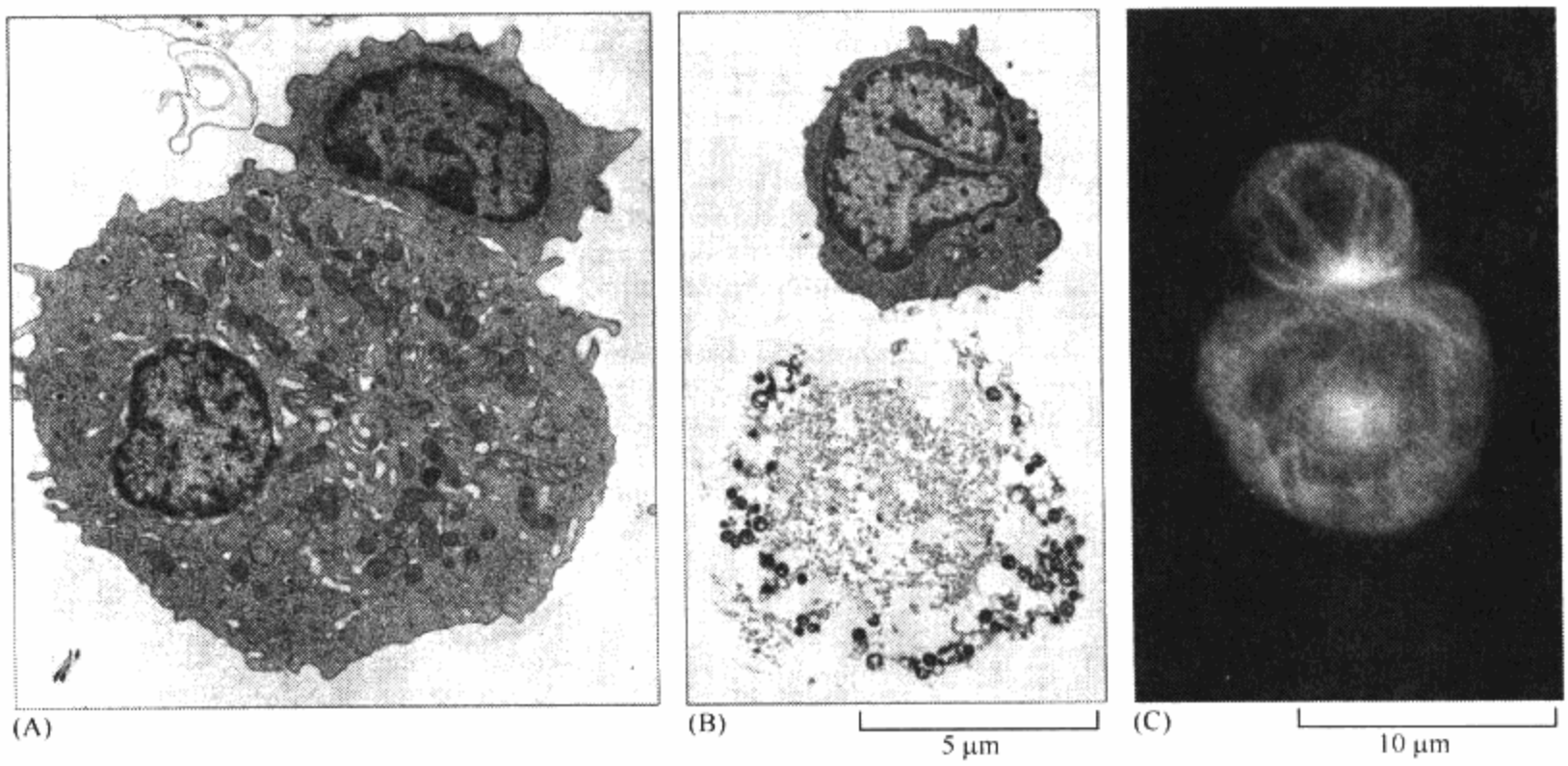


图 24-45　细胞毒效应 T 细胞杀培养的靶细胞

(A) 电子显微镜照片，显示与靶细胞结合的细胞毒效应 T 细胞。细胞毒 T 细胞来自免疫靶细胞（外来肿瘤细胞）的小鼠。(B) 电子显微镜照片，显示细胞毒 T 细胞和 T 细胞杀死的肿瘤细胞。与组织培养皿中的情况相反，动物中被杀的靶细胞在通过图中所示方式解体之前会被邻近细胞吞噬。(C) 免疫荧光显微照片，用抗微管蛋白抗体染色之后的 T 细胞和肿瘤细胞。注意，T 细胞中的中心体以及由此而发出的微管定向于与靶细胞之间的接触点，见图 16-97(A)[(A)和(B)摘自 D. Zagury, J. Bernard, N. Thierness, M. Feldman, and G. Berke, *Eur. J. Immunol.* 5: 818～822, 1975; (C) 摘自 B. Geiger, D. Rosen, and G. Berke, *J. Cell Biol.* 95: 137～143, 1982. © The Rockefeller University Press]

一旦与其靶细胞结合，细胞毒 T 细胞就能运用至少两种策略杀靶细胞，这两种策略都是诱导靶细胞通过细胞凋亡而自杀（讨论见第 17 章）。在杀受感染细胞的过程中，细胞毒 T 细胞通常释放一种生孔蛋白——**穿孔素 (perforin)**，该蛋白质与补体成分 C9 同源（图 25-42），并在靶细胞的质膜内多聚化，形成跨膜通道。穿孔素储藏在细胞毒 T 细胞的分泌囊泡中，并在与靶细胞的接触点通过局部胞吐作用被释放。分泌囊胚还含有丝氨酸蛋白酶，一般认为，这类酶通过穿孔素通道进入靶细胞的胞质溶胶中。其中一种被称为粒酶 B（granzyme B）的蛋白酶切除从而激活介导细胞凋亡的 caspase 蛋白酶家族的一个或多个成员。然后，这些 caspase 激活其他 caspase，产生一种蛋白质水解级联反应，帮助杀死细胞（讨论见第 17 章）[图 24-46 (A)]。穿孔素基因被失活的小鼠不能产生特异于微生物的细胞毒 T 细胞，并表现出对某些病毒和胞内细菌感染易感性的增加。

在第二种杀靶细胞的策略中，细胞毒 T 细胞还在靶细胞中激活一种诱导死亡的 caspase 级联反应，但不直接进行。细胞毒 T 细胞表面的一种同三聚体蛋白 **Fas 配体 (Fas ligand)** 与靶细胞上一种被称为 **Fas** 的跨膜受体蛋白结合。这种结合改变了 Fas 蛋白，结果它们的簇生胞质溶胶尾通过一种衔接蛋白招募 procaspase-8 进入复合体。招募的 procaspase-8 分子交互切割，彼此激活，从而导致细胞凋亡的 caspase 级联反应 [图 24-46 (B)]。显然，细胞毒 T 细胞运用这一策略帮助控制一个正运行良好的免疫应答是通过杀死过剩的效应淋巴细胞特别是效应 T 细胞：如果编码 Fas 或 Fas 配体的基因经突变而失活，那么效应淋巴细胞就会在脾和淋巴结中大量积累，使之变得极大。

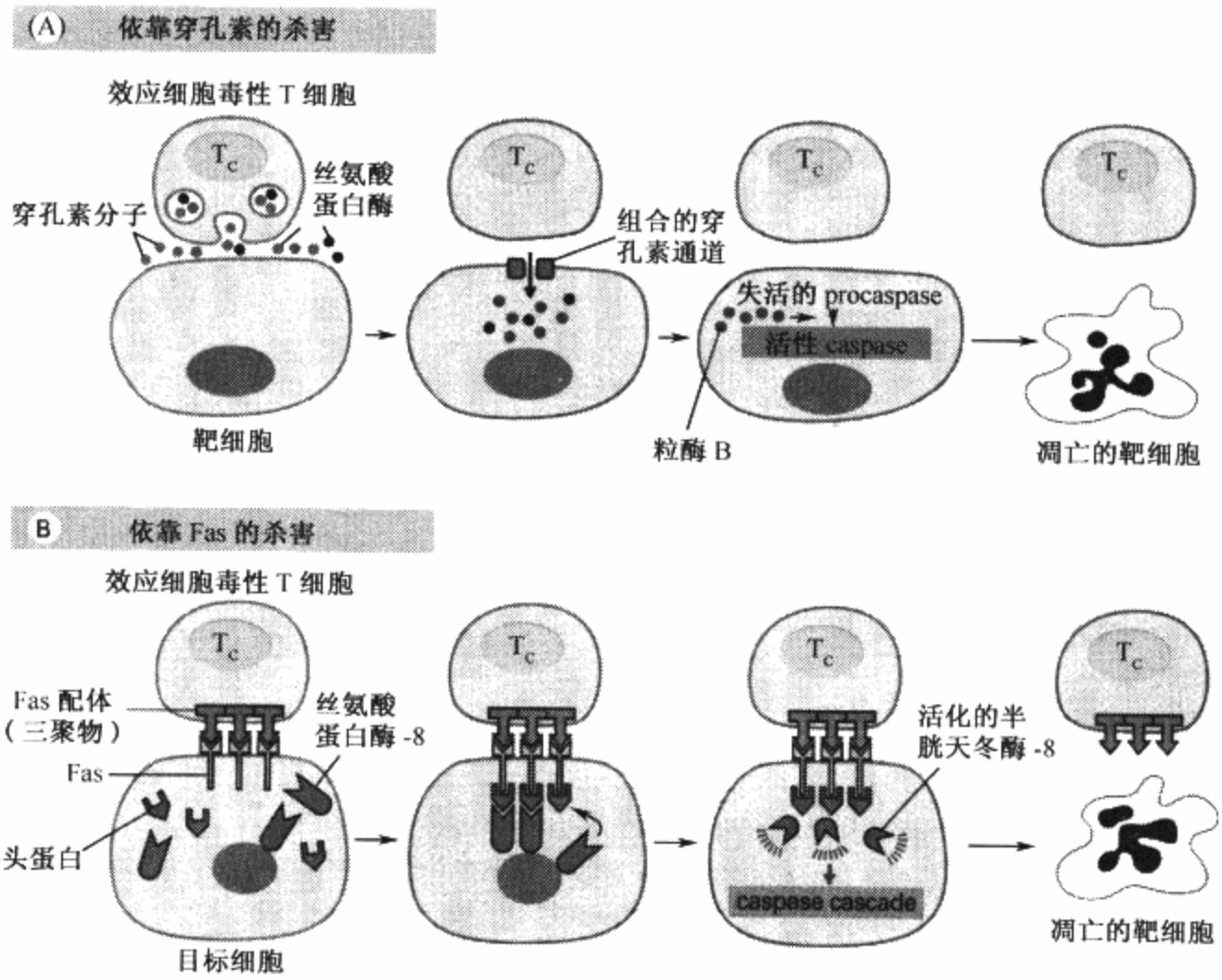


图 24-46　细胞毒效应 T 细胞杀靶细胞的两种策略

（A）细胞毒 T 细胞（T_C）通过局部胞吐作用释放穿孔素和蛋白水解酶至被感染的靶细胞表面。细胞外液中的高浓度 Ca^{2+} 促使穿孔素装配成跨膜通道，允许蛋白水解酶进入靶细胞的胞质溶胶。其中一种酶粒酶 B 切除并激活特异的 caspase 原（procaspase），从而触发导致细胞凋亡的 caspase 蛋白水解级联反应。（B）细胞毒 T 细胞表面的同三聚体 Fas 配基结合并激活靶细胞表面的 Fas 受体蛋白。Fas 的胞质溶胶尾含有一个死亡结构域（death domain），当被激活时，它与一个接头蛋白结合，反过来招募一种特殊的 procaspase（procaspase-8）。然后，簇集的 procaspase-8 分子彼此切割，产生有活性的 caspase-8 分子，启动 caspase 蛋白水解级联反应，导致细胞凋亡

辅助效应 T 细胞帮助激活巨噬细胞、B 细胞和细胞毒 T 细胞

与细胞毒 T 细胞相反，**辅助 T 细胞**是防御细胞内外病原体的关键。它们帮助刺激 B 细胞产生抗体，从而帮助失活或清除胞外病原体及其有毒产物。它们激活巨噬细胞破坏任何正在它的吞噬体内繁殖的胞内病原体，它们帮助激活细胞毒 T 细胞杀死受感染的靶细胞。

一旦一个辅助 T 细胞被一个抗原呈递细胞激活成为一个效应细胞，那么它就能帮助激活其他细胞。它做到这一点是通过分泌许多种细胞因子和在其表面展示共刺激蛋白。当被一个抗原呈递细胞激活后，一个童贞辅助 T 细胞就能分化成两类明显不同的辅助效应细胞中的任何一类，称为 T_H1 和 T_H2。T_H1 细胞主要帮助激活巨噬细胞和细胞毒 T 细胞，而 T_H2 细胞主要帮助激活 B 细胞（图 24-47）。我们后面会讨论到，入侵病原体的性质及其诱导的天然免疫应答的类型在很大程度上决定了形成哪种类型的辅助 T 细胞。这又决定被动员起来对抗侵入物的获得性免疫应答的性质。

在讨论辅助 T 细胞怎样起作用激活巨噬细胞、细胞毒 T 细胞或 B 细胞之前，我们必须考虑 MHC 蛋白在 T 细胞应答中的关键作用。

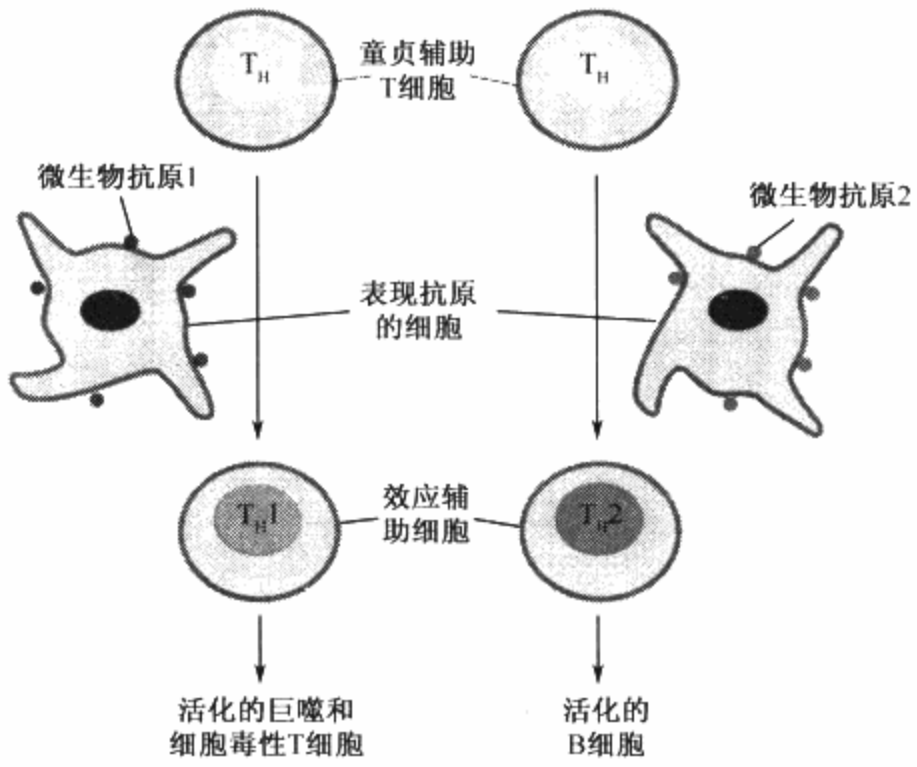


图 24-47　童贞辅助 T 细胞在外周淋巴器官中分化成 T_H1 或 T_H2 辅助效应细胞

抗原呈递细胞和激活它的病原体的特征在很大程度上决定哪种辅助效应细胞发育

T 细胞识别结合于 MHC 蛋白的外来多肽

如我们前面所讨论的，细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞最初是通过识别抗原呈递细胞（通常是树突状细胞）表面的外来抗原而在外周淋巴器官中被激活。抗原以多肽片段的形式存在，这些多肽片段是通过降解抗原呈递细胞内的外来蛋白抗原而产生的。这一识别过程依赖于带有 **MHC 蛋白**的抗原呈递细胞的存在，MHC 蛋白与这些片段结合，将它们运送至细胞表面，并在此将它们和共刺激信号一起呈递给 T 细胞。一旦被激活，效应 T 细胞就识别它们影响的靶细胞表面相同的肽-MHC 复合体，其靶细胞可能是 B 细胞、细胞毒 T 细胞、被感染的巨噬细胞（就辅助 T 细胞而言）或被病毒感染的细胞（就细胞毒 T 细胞而言）。

MHC 蛋白由一大群被称为**主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex, MHC）**的基因编码。MHC 蛋白根据其结构和功能上明显不同可分为两大类：MHC Ⅰ类蛋白，将异源多肽呈递给细胞毒 T 细胞；MHC Ⅱ类蛋白，将异源多肽呈递给辅助细胞（图 24-48）。

在审查蛋白抗原被加工处理呈递给两大类 T 细胞的不同机制之前，我们必须更加密切关注 MHC 蛋白本身，这些蛋白质对 T 细胞功能具有非常重要的作用。

在了解其功能之前，MHC 蛋白是在移植反应中被鉴定出来的

最初，MHC 蛋白被鉴定为**移植反应**中被识别的主要抗原。当器官移植物在成体之间交换时，无论是同种（同种异体移植物，allograft）还是异种（异种移植物，xenograft），它们通常都被排斥。在 20 世纪 50 年代，不同品系小鼠之间的皮肤移植试验表明，移植物排斥（graft rejection）是针对被移植细胞表面的外来抗原的一种获得性免疫应答。排斥反应主要由 T 细胞介导，对抗在遗传上“异源”的细胞表面蛋白质——组织相容性分子（histocompatibility molecule）（希腊词 histos 意思是“组织”）。由成簇排列的主要组织相容性复合体基因编码的 MHC 蛋白是其中最重要的分子。MHC 蛋白在所有高等脊椎动物的细胞表面。它们首先在小鼠内被证实，小鼠的 MHC 蛋白被称为 H-2 抗原（histocompatibility-2 antigen）。人的

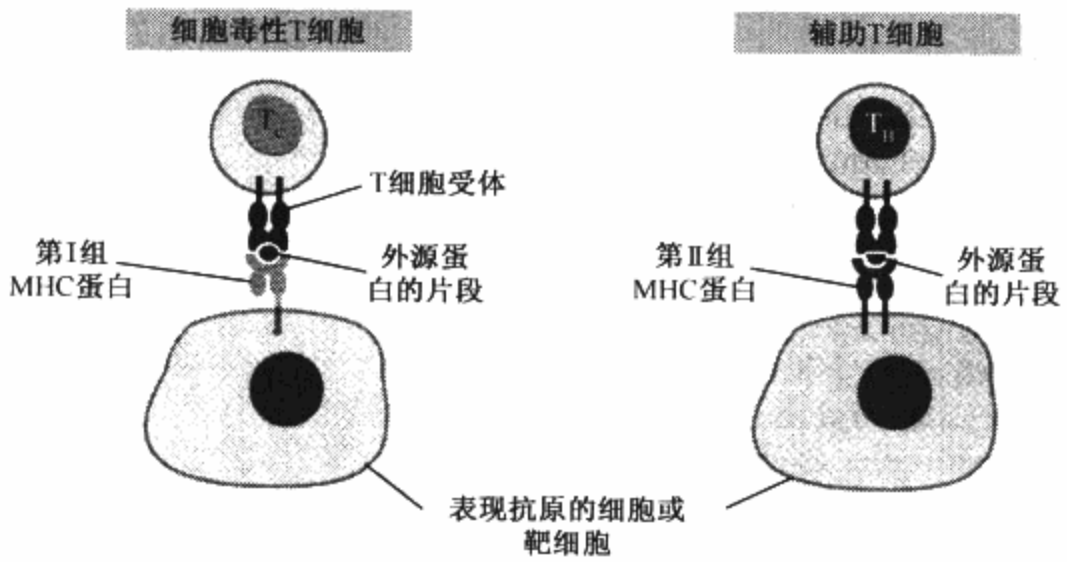


图 24-48　与 MHC 蛋白结合的外来多肽被 T 细胞识别

细胞毒 T 细胞识别与 MHC Ⅰ类蛋白结合的外来多肽，而辅助 T 细胞识别与 MHC Ⅱ类蛋白结合的外来多肽。在这两种情况下，肽-MHC 复合体都在抗原呈递细胞或靶细胞表面被识别

MHC 蛋白则被称为 HLA 抗原（人类白细胞相关抗原，human-leucocyte-associated antigen），因为它们首先在白细胞中被证实。

MHC 蛋白的三个显著特性困扰免疫学家很长一段时间。第一，MHC 蛋白绝对是 T 细胞介导的移植反应中被识别的首选抗原。第二，极大一部分 T 细胞能识别外来 MHC 蛋白：一个个体不到 0.001%的 T 细胞对一个典型病毒抗原产生应答，而大于 0.1%的 T 细胞对单一外来 MHC 抗原产生应答。第三，编码 MHC 蛋白的有些基因是已知在高等脊椎动物中最具多态性的基因，即在一个物种内，等位基因（allele，同一基因的可选形式）的数目异常大（在某些情况下大于 200），没有任何一个等位基因占优势。由于每个个体至少 12 个基因编码 MHC 蛋白（见后面），因此两个不相关的个体有一套完全相同的 MHC 蛋白是非常罕见的。这使得器官移植时供体和受体的配型非常困难，除非它们的亲缘关系很近。

当然，脊椎动物不必保护自身以防御外来脊椎动物细胞的侵入。因此，T 细胞对外来 MHC 蛋白的明显依赖以及这些分子的极端多态性是很大一个谜。这个谜只有在发现如下两点之后才能被解决：①MHC 与外来蛋白质的片段结合并将这些片段展示在宿主细胞表面供 T 细胞识别；②T 细胞以应答与外来抗原结合的自身 MHC 蛋白的相同方式应答外来 MHC 蛋白。

MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白是结构上类似的异二聚体

MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白的整体结构非常相似。二者都是跨膜异二聚体，胞外 N 端结构域结合抗原，呈递给 T 细胞。

MHC Ⅰ类蛋白由一条跨膜 α 链（由一个 MHC Ⅰ类基因编码）和一个被称为 β_2-微球蛋白的胞外小蛋白质组成［图 24-49（A）］。β_2-微球蛋白不跨膜，由一个不位于 MHC 基因簇的基因编码。α 链被折叠成三个胞外球蛋白结构域（α_1、α_2、α_3），α_3 结构域和 β_2-微球蛋白靠膜最近，都与 Ig 结构域类似。α 链的两个 N 端结构域离膜最远，含有被移植反应中的 T 细胞识别的多态性（可变）氨基酸。这些结构域结合一条多肽并将它呈递给细胞毒 T 细胞。

与 MHC Ⅰ类蛋白相同，**MHC Ⅱ类蛋白**是异二聚体，有两个保守的类 Ig 结构域靠近质膜，两个多态性（可变）N 端结构域距膜最远。然而，在这些蛋白质中，两条链（α 和 β）都由 MHC 内的基因编码，而且两条链都跨膜［图 24-49（B）］。这两个多态性结构域结合一条

多肽，并将它呈递给辅助 T 细胞。

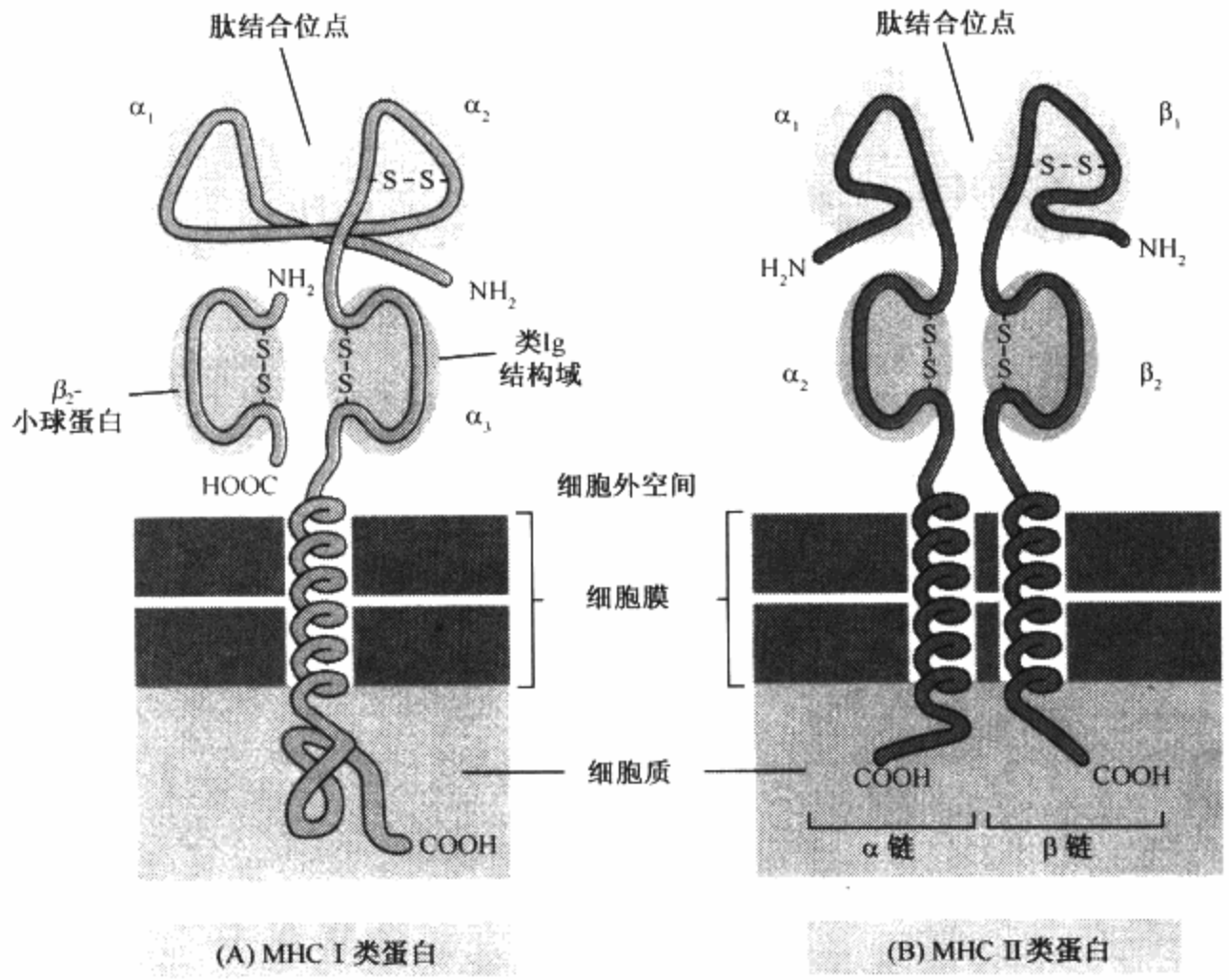


图 24-49　MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白

（A）Ⅰ类分子的 α 链有三个胞外结构域 α_1、α_2 和 α_3，由独立的外显子编码。它与一条较小的多肽链 β_2-微球蛋白质非共价结合，该蛋白质的编码基因不在 MHC 内。α_3 结构域和 β_2 微球蛋白都是类 Ig。尽管 β_2-微球蛋白是不变的，但 α 链极具多态性，主要是 α_1 和 α_2 结构域；α_2 和 β_2 结构域都是类 Ig。因此，MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白之间有着惊人的相似性。在此二者中，最外部的两个结构域（蓝色）相互作用，形成一条沟，结合外来蛋白的肽片段并将它们呈递给 T 细胞

Ⅰ类和Ⅱ类蛋白质中存在类 Ig 结构域，暗示 MHC 蛋白和抗体有相同的进化史。编码人 MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白质的基因的位置如图 24-50 所示，图中说明一个体怎样才能产生 6 种类型的 MHC Ⅰ类蛋白和多于 6 种类型的Ⅱ类蛋白。

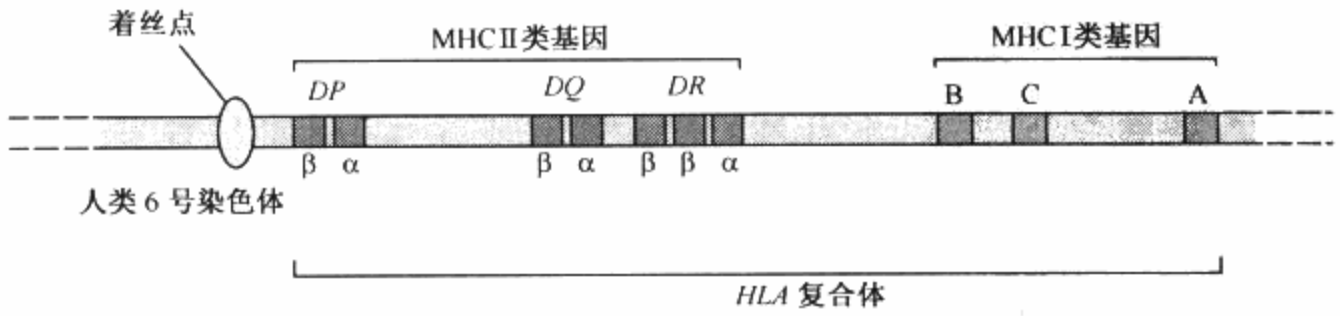


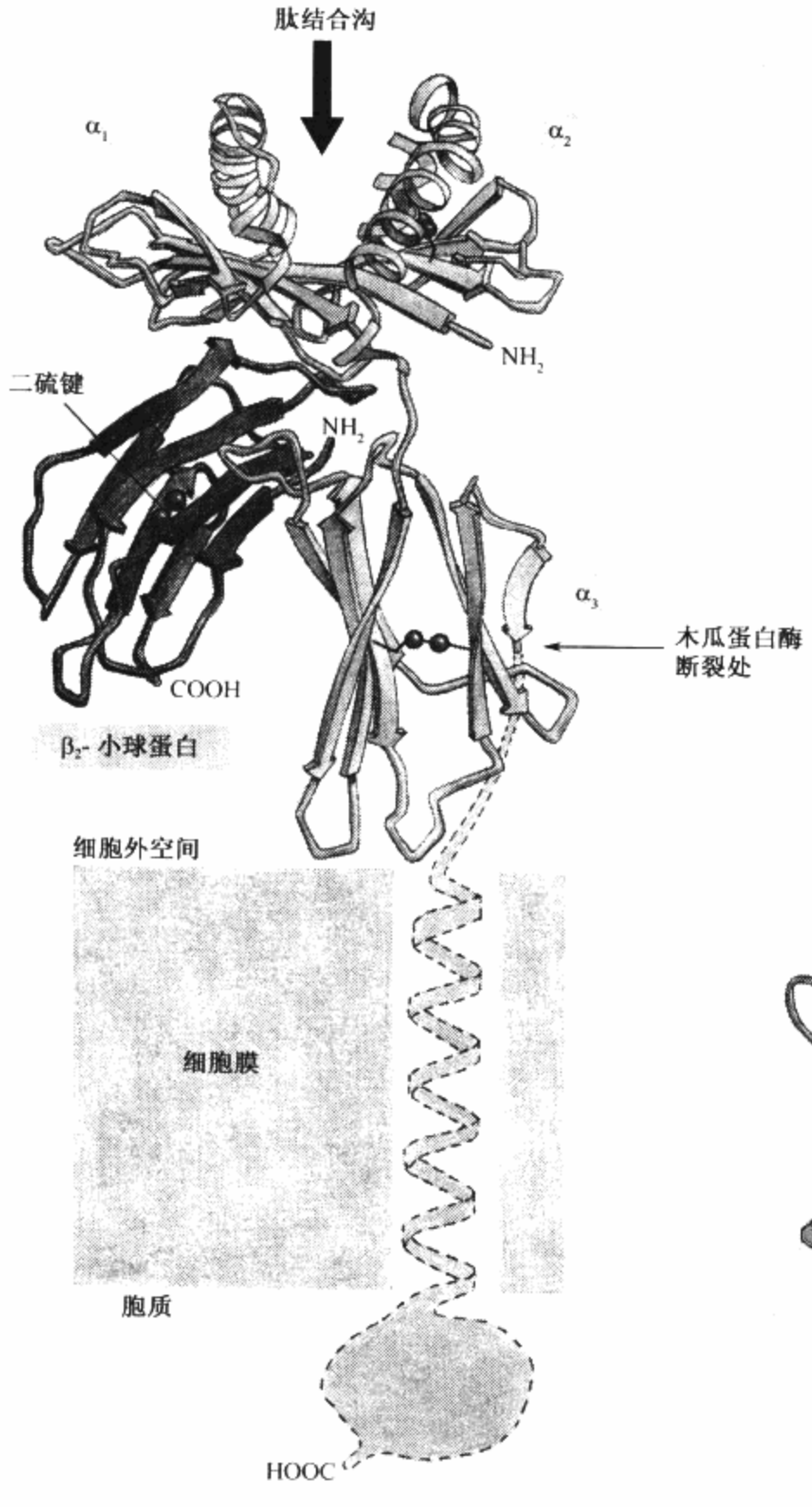
图 24-50　人的 MHC 基因

这一简化示意图显示编码 MHC Ⅰ类（淡绿）和 MHC Ⅱ类（深绿）蛋白跨膜亚单位的基因位置。所显示的基因编码三种类型的Ⅰ类蛋白（HLA-A、HLA-B 和 HLA-C）和三种类型的Ⅱ类蛋白（HLA-DP、HLA-DQ 和 HLA-DR）。因此，一个个体能产生 6 种类型的 MHC Ⅰ类蛋白（三个由母本基因编码，另三个由父本基因编码）和 6 种以上的 MHC II 类蛋白。能产生的 MHC Ⅱ类蛋白的数目会增加，因为有两个 DR 区的 β 基因，还因为母本编码的多肽链和父本编码的多肽链有时能够配对

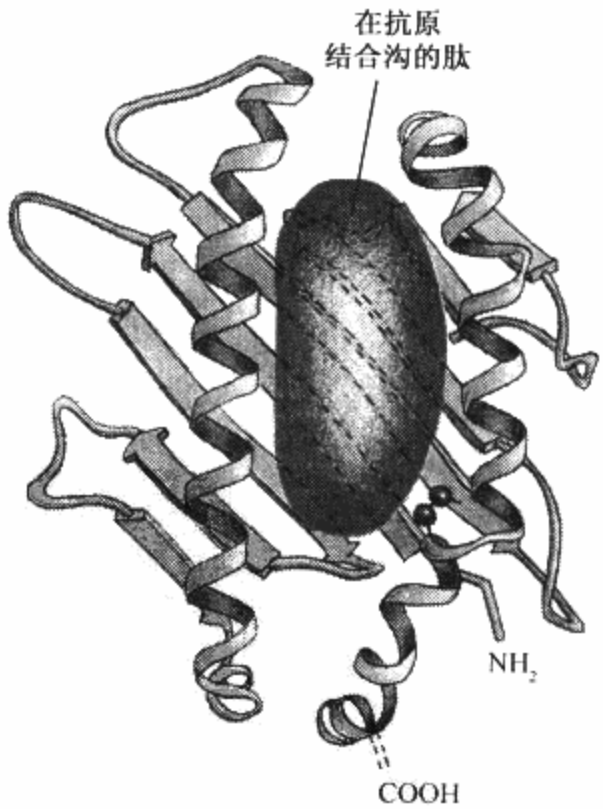
除经典的 MHC Ⅰ类蛋白外，还有许多非经典的 MHC Ⅰ类蛋白（nonclassical class Ⅰ MHC protein），它们与 β_2-微球蛋白形成二聚体。这些蛋白质没有多态性，但是其中一些将特异微生物抗原，包括一些脂质和糖脂，呈递给 T 细胞。然而，其中大部分蛋白质的功能未知。

MHC 蛋白与多肽结合并与 T 细胞受体相互作用

任何一个个体都只能产生少数几种不同的 MHC 蛋白，而且这些蛋白质必须能将几乎任



(A) 侧视图



(B) 顶视图

图 24-51　人的 MHC Ⅰ类蛋白的三维结构，通过该分子胞外部分结晶的 X 射线衍射分析而测定
该蛋白质的胞外部分在结晶前用蛋白水解酶木瓜蛋白酶从跨膜片段处切开。（A）最靠近质膜的两个结构域（α_3 和 β_2 微球蛋白）每个都类似于一个典型的 Ig 结构域（图 24-34），而距膜最远的两个结构域（α_1 和 α_2）彼此非常类似，在分子的顶部共同形成一个肽结合沟。（B）肽结合沟的俯视图。与 MHC 蛋白共纯化的小肽被示意显示（根据 P. J. Bjorkman, M. A. Saper, B. Samraoui, W. S. Bennett, J. L. Strominger, and D. C. Wiley, *Nature* 329: 506～512, 1987）

何一种外来蛋白质的多肽片段呈递给 T 细胞。因此，与抗体分子不同，每个 MHC 蛋白必须能与极大量的不同多肽结合。这种多能性的结构基础来自 MHC 蛋白的 X 射线晶体结构学分析。

如图 24-51（A）所示，一个 MHC Ⅰ类蛋白只有一个位于分子一端的肽结合位点，且该位点背向质膜。这个位点包括两段长 α 螺旋之间的一条深沟；这条沟在两端变窄，结果它只是大到足以容纳一条展开长约 8～10 个氨基酸的多肽链。实际上，1987 年首次用 X 射线晶体结构学分析一个 MHC Ⅰ类蛋白时，这条沟含有与 MHC 蛋白共结晶的结合肽［图 24-51（B）］，暗示一旦一条多肽与这个位点结合，通常它不会解离。

一条典型多肽以伸展构象与 MHC Ⅰ类蛋白的沟结合，它的末端氨基与沟一端的不变口袋结合，末端羧基与沟另一端的不变口袋结合。多肽中的其他氨基酸（称为锚氨基酸）与沟中的“特异性口袋”结合，这种“特异性口袋”由 MHC 蛋白的多态性部分组成（图 24-52）。多肽的其他氨基酸侧链指向外面，被细胞毒 T 细胞上的受体识别。因为结合沟末端的保守性口袋识别所有肽共有的肽骨架特征，所以 MHC Ⅰ类蛋白的每种等位形式都能结合许多种不同序列的肽。同时，沿沟的不同特异性口袋（与肽的特殊氨基酸侧链结合），确保每种等位形式结合并呈递一组特性明显不同的肽。因此，一个个体中 6 种类型的 MHC Ⅰ类蛋白能将许多种外源多肽呈递给细胞毒 T 细胞，但是在每个个体中，它们的呈递方式略有不同。

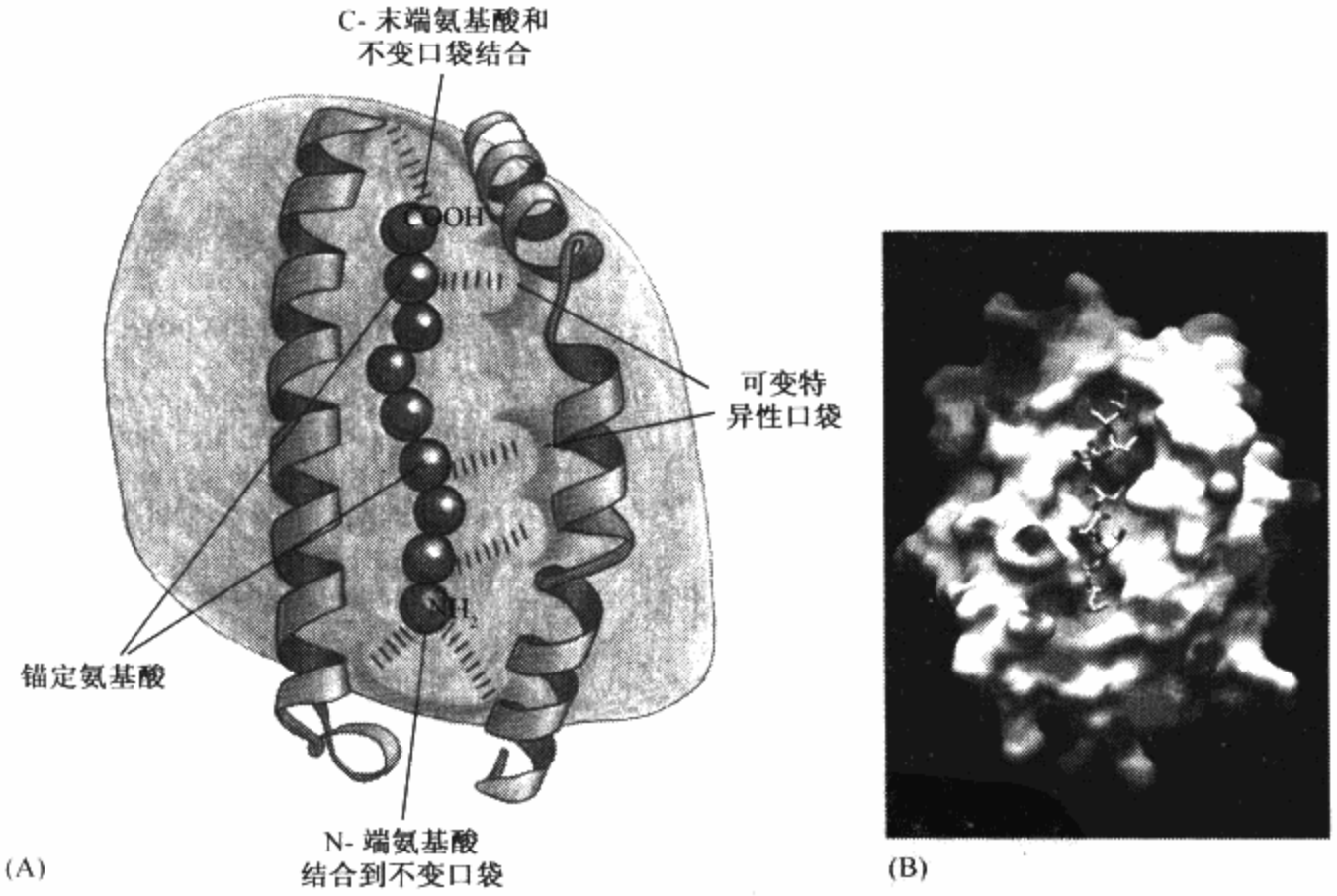


图 24-52　结合在 MHC Ⅰ类蛋白的沟中的一条肽

（A）沟的俯视示意图。肽骨架显示为一串红色小球，每个小球代表肽的 9 个氨基酸。肽骨架的末端氨基和羧基与沟末端的不变口袋结合，而肽的几个锚定氨基酸的侧链则与沟中的可变特异性口袋结合。（B）结合在 MHC Ⅰ类蛋白的沟中的肽的三维结构，通过 X 射线衍射测定［（B）经 Paul Travers 许可］

MHC Ⅱ类蛋白的三维结构与Ⅰ类蛋白非常相似，但其抗原结合沟不在末端变窄，所以能容纳更长的多肽，通常为 13～17 个氨基酸。而且，这种多肽不以其末端结合。它通过与不变口袋相结合的部分肽骨架和与沟中的可变特异性口袋结合的锚氨基酸侧链而被滞留在沟中，这些不变口袋由沿所有 MHC Ⅱ类的肽结合沟排列的保守氨基酸形成（图 24-53）。MHC Ⅱ

类结合沟能容纳比 MHC Ⅰ类蛋白更具异质性的一组多肽。因此，尽管一个个体仅能产生少数几种Ⅱ类蛋白质，且每种都有其自身独特的肽结合沟，但是这些蛋白质能同时结合并呈递极大量的外源蛋白质给辅助 T 细胞，这在几乎所有获得性免疫反应中都有至关重要的作用。

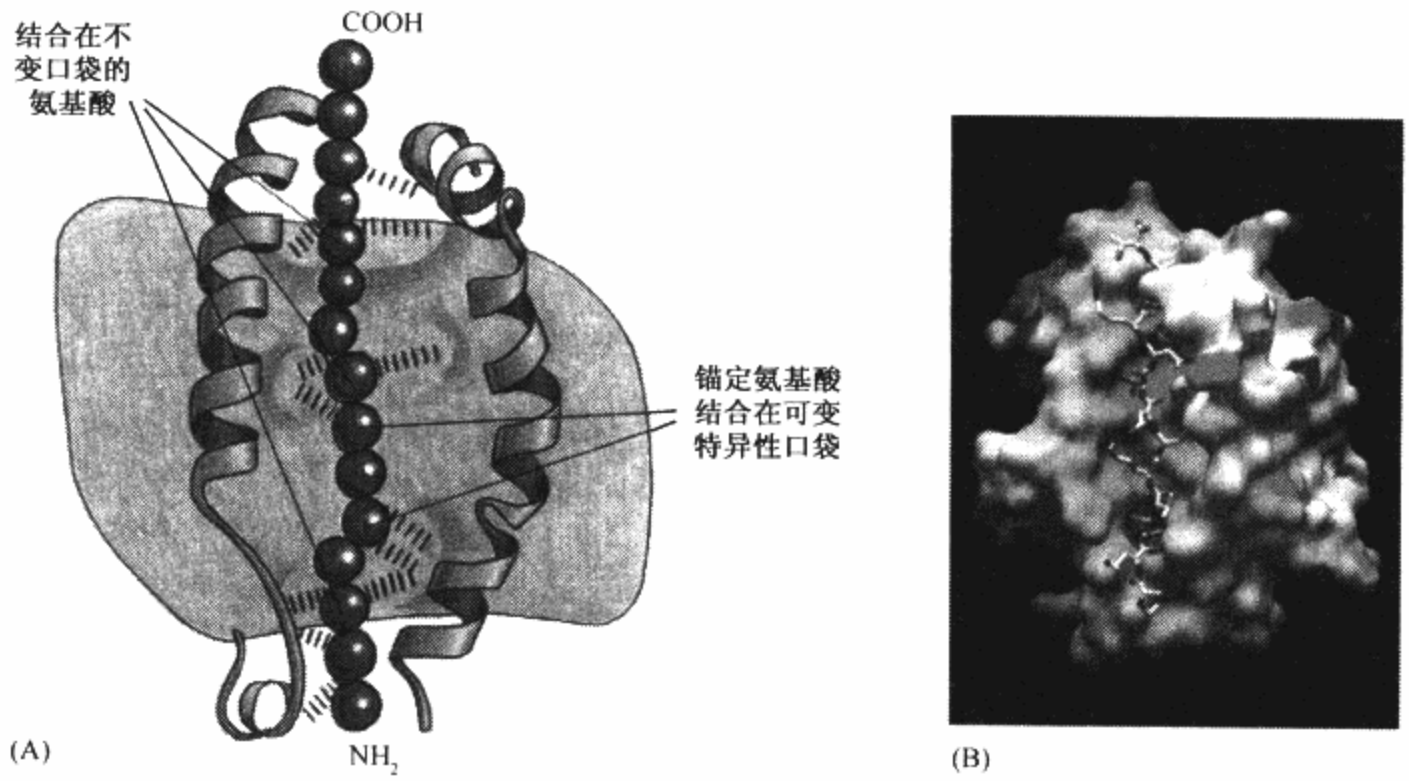


图 24-53　结合在 MHC Ⅱ类蛋白的沟中的肽

（A）类似于图 24-52（A）所示的示意图。注意，肽的末端没有紧密结合并延伸出裂口。肽被容纳在沟中是通过沟中部分骨架和不变口袋之间的相互作用以及沟中肽的几个锚定氨基酸侧链和可变特异性口袋之间的相互作用。

（B）结合在 MHC Ⅱ类蛋白的沟中的肽的三维结构，通过 X 射线衍射测定［（B）经 Paul Travers 许可］

T 细胞受体识别与 MHC 蛋白结合的肽片段的方式是通过由可溶性受体和在其沟中结合有多态的可溶性 MHC 蛋白形成的复合体的 X 射线结晶学分析而被揭示的（用于这些实验的可溶性蛋白由重组 DNA 技术产生）。在所研究的每个事例中，T 细胞受体以对角方向横过肽

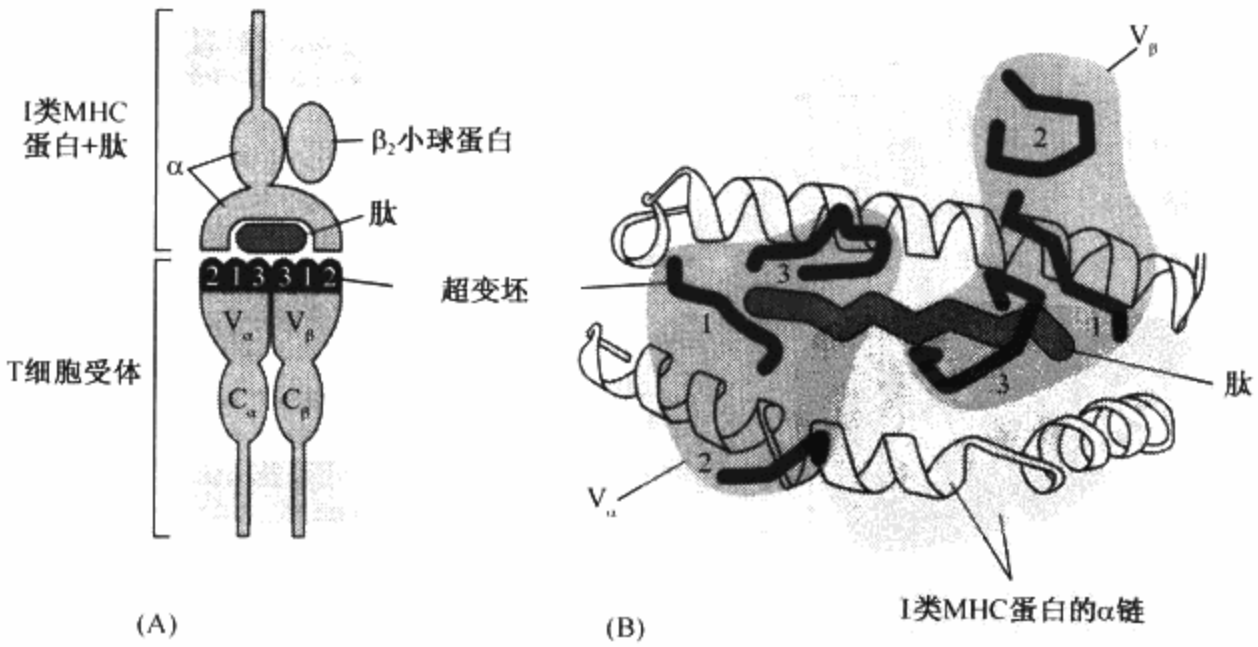


图 24-54　T 细胞受体与结合至Ⅰ类 MHC 蛋白的病毒肽之间的相互作用

（A）与多肽和 MHC 蛋白的肽结合沟的壁相互作用的 T 细胞受体的 V_α 和 V_β 结构域的超变环示意图。图中没有指明精确的接触点。（B）位于肽结合沟上方的受体的 V 结构域（蓝色）和超变环（深蓝色）的“足迹”图（通过 X 射线衍射测定）。V_α 结构域涵盖肽的氨基端一半，而 V_β 结构域覆盖羧基端一半。注意，受体以对角方向横过肽结合沟［（B）改编自 D. N. Garboczi et al.，*Nature* 384：134～141，1996］

结合沟，并通过 V_α 和 V_β 超变环与沟壁和肽结合（图 24-54）。现在，可溶性 MHC-肽复合体被广泛用于探测具有特殊特性的 T 细胞；它们常常交联形成四聚体，以增加对 T 细胞受体的亲合力。

MHC 蛋白帮助指挥 T 细胞到达其适当的靶目标

MHC Ⅰ类蛋白实际上在所有有核细胞上都表达。这可能是因为，细胞毒效应 T 细胞必须能集中并杀死体内碰巧感染了胞内微生物例如病毒的任何细胞。相反，Ⅱ类蛋白在正常情况下主要局限于那些从细胞外液吸收外来抗原并与辅助 T 细胞相互作用的细胞。这些细胞包括树突状细胞（最初激活辅助 T 细胞）以及辅助效应 T 细胞的靶细胞，如巨噬细胞和 B 细胞。因为树突状细胞表达 MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白，所以它们能激活细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞。

细胞毒效应 T 细胞将其攻击集中于产生外来抗原（如病毒蛋白）的细胞，而辅助 T 细胞在将它的辅助主要集中于从细胞外液吸收外来抗原的细胞。既然前一种类型的细胞一直都是一种威胁，而后一种类型的细胞对受体的免疫应答又是必需的，那么至关重要的是，T 细胞决不能将两种靶细胞混淆而错用其细胞毒功能和辅助功能。因此，除识别肽-MHC 复合体的抗原受体外，这两种主要类型 T 细胞中的每一种都表达一种共受体（co-receptor），识别适当类型的 MHC 蛋白独立的、不变的部分。这两种被称为 CD4 和 CD8 共受体分别帮助辅助 T 细胞和细胞毒 T 细胞作用于它们适当的靶细胞，这一点我们现在讨论。MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白的特性比较见表 24-2。

表 24-2　人 MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白的特性

	Ⅰ类	Ⅱ类
基因位点	*HLA-A*、*HLA-B*、*HLA-C*	*DP*、*DQ*、*DR*
链结构	α 链 $+\beta_2$-微球蛋白	α 链 + β 链
细胞分布	大部分有核细胞	抗原呈递细胞（包括 B 细胞）、胸腺上皮细胞、其他一些细胞
涉及将抗原呈递给	细胞毒 T 细胞	辅助 T 细胞
肽片段的来源	胞质中产生的蛋白质	内吞的质膜和胞外蛋白
多态性结构域	$\alpha_1 + \alpha_2$	$\alpha_1 + \beta_1$
识别的供受体	CD8	CD4

CD4 和 CD8 共受体结合至 MHC 蛋白的不变部分

T 细胞受体对抗原呈递细胞或靶细胞上的肽-MHC 复合体的亲和力通常太低而不能单独介导这两种细胞之间的功能互作。在正常情况下，T 细胞需要辅助受体（accessory receptor）通过增加细胞间黏着的总体强度来帮助稳定这种互作。

当辅助受体在通过产生胞内信号激活 T 细胞中有直接作用时，它们就被称为**共受体**。T 细胞上最重要和了解得最清楚的共受体是 CD4 和 CD8 蛋白，二者都是具有胞外类 Ig 结构域的单跨膜蛋白质。T 细胞受体相同的是，它们识别 MHC 蛋白，但与 T 细胞受体不同的是，它们结合至蛋白质的不变部分，远离肽结合沟。**CD4** 在辅助 T 细胞表面表达，并与 MHC Ⅱ类蛋白结合，**CD8** 则在细胞毒 T 细胞表面表达，并与 MHC Ⅰ类蛋白结合（图 24-55）。因此，CD4 和 CD8 促成 T 细胞识别是通过帮助将细胞聚集在特殊 MHC 蛋白，因而聚集于特殊类型的细胞——将辅助 T 细胞聚集于树突状细胞、巨噬细胞和 B 细胞，将细胞毒 T 细胞聚集

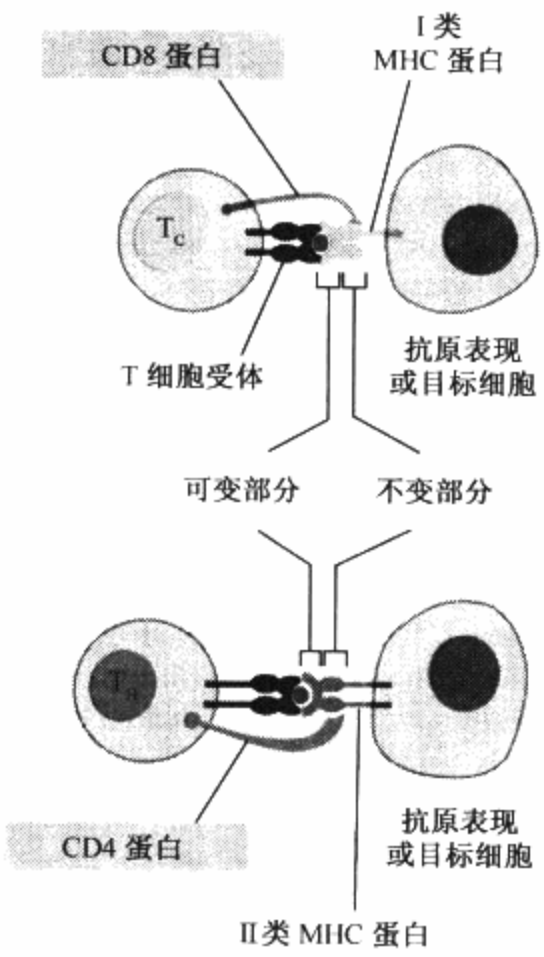


图 24-55　T 细胞表面的 CD4 和 CD8 共受体

细胞毒 T 细胞（T_C）表达 CD8，识别 MHC Ⅰ类蛋白，而辅助 T 细胞（T_H）表达 CD4，识别 MHC Ⅱ类蛋白。注意，共受体结合的 MHC 蛋白与 T 细胞受体结合的相同。尽管 T 细胞受体与 MHC 蛋白中形成肽结合沟的可变（多态性）部分结合，但是共受体与远离沟的不变部分结合

于展示外来抗原于 MHC Ⅰ类蛋白上的任何有核宿主细胞。这些跨膜蛋白的胞质尾区与胞质酪氨酸蛋白激酶 Lck 的 Src 家族的一个成员结合，*Lck* 使各种胞内蛋白的酪氨酸磷酸化，因而参与 T 细胞的激活。抗 CD4 和 CD8 的抗体被广泛用作辨别人和实验动物中这两种主要类型的 T 细胞的工具。

带有讽刺意味的是，艾滋病毒（HIV）利用 CD4 分子（还有趋化因子受体）进入辅助 T 细胞。最终，辅助 T 细胞的衰竭使得艾滋病患者易于受到通常并不危险的微生物的感染。结果，大多数艾滋病患者在出现症状后几年之内就死于感染，除非他们接受到强有力的抗 HIV 药物的组合治疗。HIV 同样利用 CD4 和趋化因子受体进入巨噬细胞，因为巨噬细胞表面也存在这两种受体。

在细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞能识别一个外来蛋白质之前，该蛋白质必须在抗原呈递细胞或靶细胞内进行加工处理以便能以肽-MHC 复合体的形式展示在细胞表面。首先，我们考虑一个病毒感染的抗原呈递细胞或靶细胞怎样加工处理病毒蛋白以呈递给细胞毒 T 细胞。然后，我们讨论摄入的外来蛋白质怎样被加工以呈递给辅助 T 细胞。

细胞毒 T 细胞识别与 MHC Ⅰ类蛋白结合的外来胞质溶胶蛋白片段

MHC 蛋白将外来抗原呈递给 T 细胞的最先和最引人注目的实证之一来自 20 世纪 70 年代所作的一项实验。人们发现，只要这些靶细胞表达的一些 MHC Ⅰ类蛋白与病毒感染小鼠的相同，那么来自感染小鼠的细胞毒效应 T 细胞就能杀死感染了相同病毒的培养细胞（图 24-56）。这项试验表明，识别一个特异抗原的任何一个个体的 T 细胞只有当该抗原与该个体表达的 MHC 蛋白的等位形式结合时才出现这种情况，此现象即为 MHC 限制。

细胞毒 T 细胞识别的病毒抗原的化学性质在接下来的 10 年仍然未被发现。在感染流感病毒的细胞实验中，人们意外发现，一些被病毒激活的细胞毒效应 T 细胞特异识别那些不易得到完整病毒颗粒的病毒的内部蛋白质。随后的证据表明，T 细胞识别与感染细胞表面的 MHC Ⅰ类蛋白结合的病毒内部蛋白质的降解片段。因为 T 细胞能识别极微量的抗原（少至 100 个肽-MHC 复合体），所以只要一小部分来自病毒蛋白质的片段与 MHC Ⅰ类蛋白结合，并到达细胞表面，就能引起细胞毒效应 T 细胞的攻击。

病毒蛋白在感染细胞的胞质溶胶中合成。如第 3 章所讨论的，胞质溶胶中蛋白水解酶的降解作用主要由 ATP 和泛素依赖机制介导，这一机制以蛋白酶体（proteasome）（由许多不同的蛋白质亚基组成的大蛋白质水解酶复合体）的形式起作用。尽管所有的蛋白酶体或许都能产生能与 MHC Ⅰ类蛋白结合的肽片段，但是一些蛋白酶体被认为是专门用于此目的，因为它们含有由位于 MHC 染色体区域内的基因编码的两个亚基。甚至细菌蛋白酶体将蛋白质切成长度适合于 MHC Ⅰ类蛋白沟的肽段，提示 MHC 蛋白的沟演化成适合这种长度的肽。

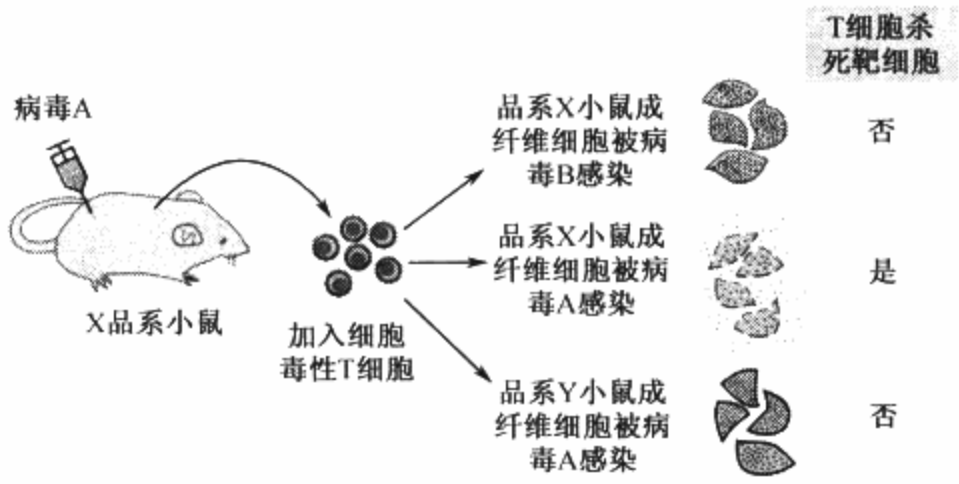


图 24-56　细胞毒效应 T 细胞除识别病毒抗原之外还识别宿主靶细胞表面的 some aspect 的经典实验

X 品系的小鼠感染病毒 A。7 天后，这些小鼠的脾脏中含有能在细胞培养中杀死病毒感染的 X 品系成纤维细胞的细胞毒效应 T 细胞。正如所料，它们仅杀死感染病毒 A 的成纤维细胞，而不杀死那些感染病毒 B 的成纤维细胞。因此，细胞毒 T 细胞是病毒特异的。然而，相同 T 细胞也不能杀死感染了相同病毒 A 的 Y 品系小鼠的成纤维细胞，提示细胞毒 T 细胞识别两类成纤维细胞之间的遗传差异，而不仅仅是病毒。消除这种差异需要用到特殊的小鼠品系（即同基因异系株），这些品系或者在遗传上完全相同，除了在其 MHC Ⅰ类位点的等位基因，或者除了这些等位基因外在遗传上不同。通过这一途径，发现杀死被感染的靶细胞需要它们至少表达一种与最初感染的小鼠相同的 MHC Ⅰ类等位基因。这提示，MHC Ⅰ类蛋白对呈递与细胞表面结合的病毒抗原给细胞毒效应 T 细胞是必需的

胞质溶胶中产生的肽怎样与内质网腔中的 MHC Ⅰ类蛋白的肽结合沟接触呢（图 24-57）？这一问题的答案是通过观察 MHC Ⅰ类蛋白不在细胞表面表达而在细胞内部降解的突变细胞发现的。这些细胞中的突变基因编码属于 ABC 运载体（ABC transporter，讨论见第 11 章）家族的一个蛋白质的亚基。这个运载体蛋白定位于内质网膜，利用 ATP 水解的能量将肽从胞质溶胶泵入内质网腔。编码这两种亚基的基因位于 MHC 染色体区域，如果任何一个基因因突变而失活，那么细胞就不能将肽供应给 MHC Ⅰ类蛋白。这些突变细胞中的 MHC Ⅰ类蛋白在胞内降解，因为肽结合对于这些蛋白质的正确折叠通常都是必需的。在与肽结合之前，MHC Ⅰ类蛋白一直留在内质网，通过一个伴侣蛋白与一个 ABC 运载体拴在一起（图 24-58）。

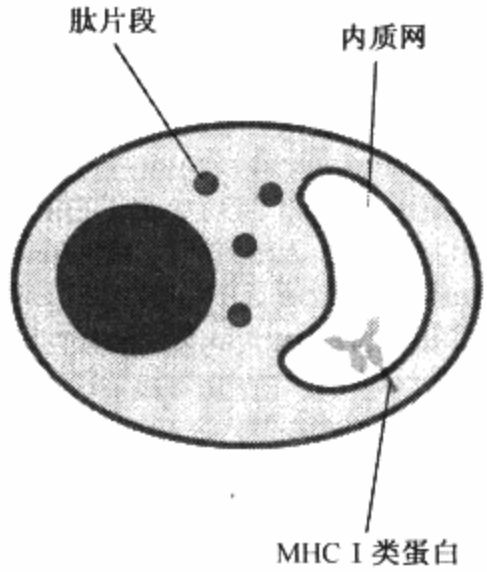


图 24-57　肽运输问题

怎样从胞质溶胶（此处产生肽片段）中获取肽片段，转运至内质网腔（MHC Ⅰ类蛋白的肽结合沟定位于此），这需要一个特殊的转运过程

在没有被感染的细胞中，肽片段来源于在正常的蛋白质转换和质量控制机制过程中降解的细胞自身的胞质溶胶蛋白和核蛋白（令人惊讶的是，由哺乳动物细胞制造的 30%以上的蛋白质有明显缺陷，合成后不久就在蛋白酶体中被降解）。这些肽被泵入内质网并通过 MHC Ⅰ类蛋白运送至细胞表面。它们没有抗原性，因为能识别它们的细胞毒细胞在 T 细胞发育期间已被清除或失活，关于这一点我们稍后会予以讨论。

当细胞毒 T 细胞和一些辅助 T 细胞被抗原激活成为效应细胞时，它们分泌细胞因子 **γ 干扰素（interferon-γ，IFN-γ）**，这大大增强了抗病毒应答。IFN-γ 以两种方式作用于被感染的细胞。它阻断病毒的复制，增加 MHC 染色体区内许多基因的表达。这些基因包括编码Ⅰ类（和Ⅱ类）MHC 蛋白的基因、编码两个特化蛋白酶体亚基的基因和编码定位于内质网的肽运载体的两个亚基的基因（图 24-59）。因此，呈递病毒抗原给细胞毒 T 细胞所必需的所有装置

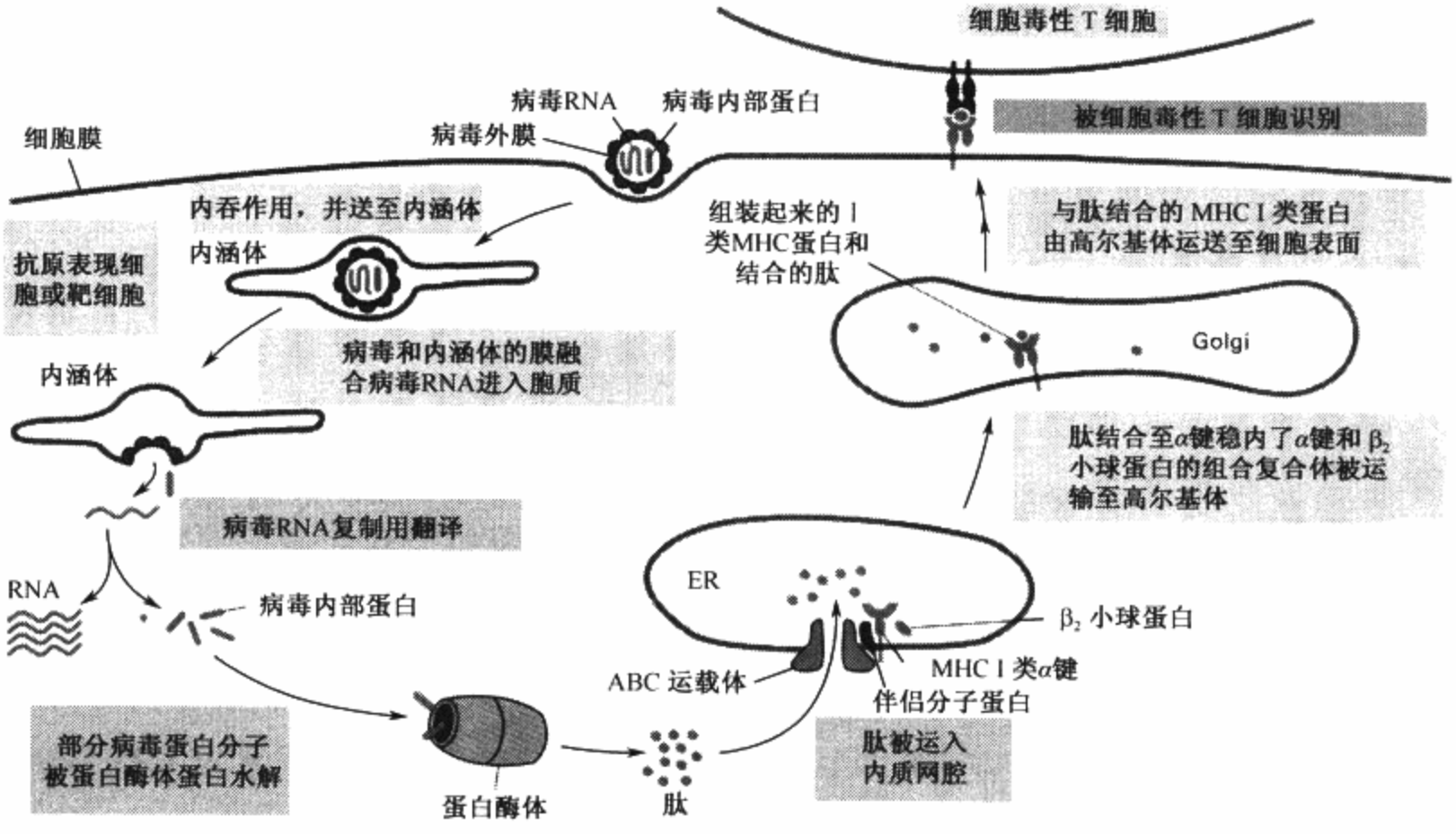


图 24-58　病毒蛋白的加工处理，用于呈递给细胞毒 T 细胞

当细胞毒效应 T 细胞识别与感染细胞表面的 MHC Ⅰ类蛋白结合的病毒蛋白片段时，就会杀死病毒感染的细胞，并非所有的病毒都以这种有包膜 RNA 病毒采取的方式进入细胞，但是胞内病毒蛋白片段总是采取所示的这条途径。一些在胞质溶胶中合成的病毒蛋白被降解，这些量足以引起细胞毒 T 细胞的攻击。MHC Ⅰ类蛋白的折叠和装配得到内质网腔中的几种伴侣蛋白的帮助，途中只显示其中一种。伴侣蛋白与 MHC Ⅰ类 α 链结合，从而发挥作用。最后一个伴侣蛋白使 MHC 蛋白与 ABC 运载体结合，如图所示

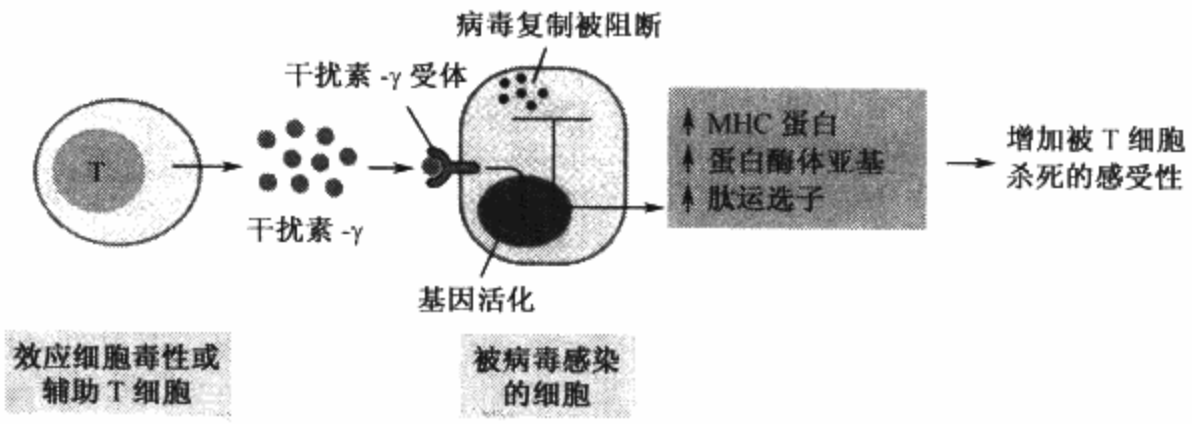


图 24-59　γ 干扰素对感染细胞的一些效应

活化的 γ 干扰素受体给细胞核发信号，改变基因转录，从而产生图中所示的效应。涂成黄色的效应易于使感染细胞成为一个更好的靶目标，被细胞毒效应 T 细胞所杀

通过干扰素共同发挥作用，产生使免疫应答增强并在被感染细胞死亡时结束的正反馈。

辅助 T 细胞识别与 MHC Ⅱ类蛋白有关的内吞外来蛋白质的片段

与细胞毒 T 细胞不同，辅助 T 细胞并不直接起作用杀死被感染的细胞以清除微生物。相反，它们刺激巨噬细胞，使之更有效地破坏胞内微生物，它们帮助 B 细胞和细胞毒 T 细胞对微生物抗原做出应答。

像呈递给细胞毒 T 细胞的病毒蛋白一样，抗原呈递细胞或靶细胞呈递给辅助 T 细胞的蛋

白质是外来蛋白质的降解片段。这些片段与 MHC Ⅱ类蛋白结合的方式和病毒来源的肽与 MHC Ⅰ类蛋白结合的方式大致相同。但是，这些被呈递肽段的来源及其找到 MHC 蛋白的途径与 MHC Ⅰ类蛋白呈递给细胞毒 T 细胞的肽段不同。

呈递给辅助 T 细胞的外来肽来源于内体（endosome），而不是来源于细胞胞质溶胶中合成的外来蛋白质。一些来源于胞外微生物或抗原呈递细胞内吞并在其内体的酸性环境中降解的产物。其他则来自在抗原呈递细胞的内吞泡中生长的微生物。这些肽不必被跨膜泵入胞质，因为它们不是起源于胞质溶胶；它们产生于在局部解剖学上相当于细胞外间隙的区域。它们从不进入内质网腔（MHC Ⅱ类蛋白在此被合成和装配），而是在一个内吞泡中与预装配 MHC Ⅱ类蛋白异二聚体结合。一旦与肽结合，MHC Ⅱ类蛋白就改变其构象，将肽捕获在结合沟中，在细胞表面呈递给辅助 T 细胞。

新合成的 MHC Ⅱ类蛋白必须避免来自内源合成蛋白的肽过早堵塞内质网腔中的结合沟。一条特殊多肽，即**不变链**（invariant chain），通过与内质网中新合成的 MHC Ⅱ类异二聚体结合对此作出保证。其部分多肽链位于 MHC 蛋白的肽结合沟，从而阻断沟与内质网腔中的其他蛋白质结合。不变链还指导 MHC II 类蛋白从高尔基体反面的管网结构（*trans* Golgi network）到达网内吞泡。不变链在此被蛋白酶切割，仅留下一条短肽结合在 MHC 蛋白的肽结合沟。接着，这一片段被释放（由类 MHC Ⅱ类蛋白 HLA-DM 催化），使 MHC 蛋白游离出来，与来源于内吞蛋白的肽结合（图 24-60）。通过这种方式，MHC Ⅰ类和Ⅱ类蛋白之间的功能差异得到保证——前者呈递来自胞质溶胶的分子，后者呈递来自内吞泡的分子。

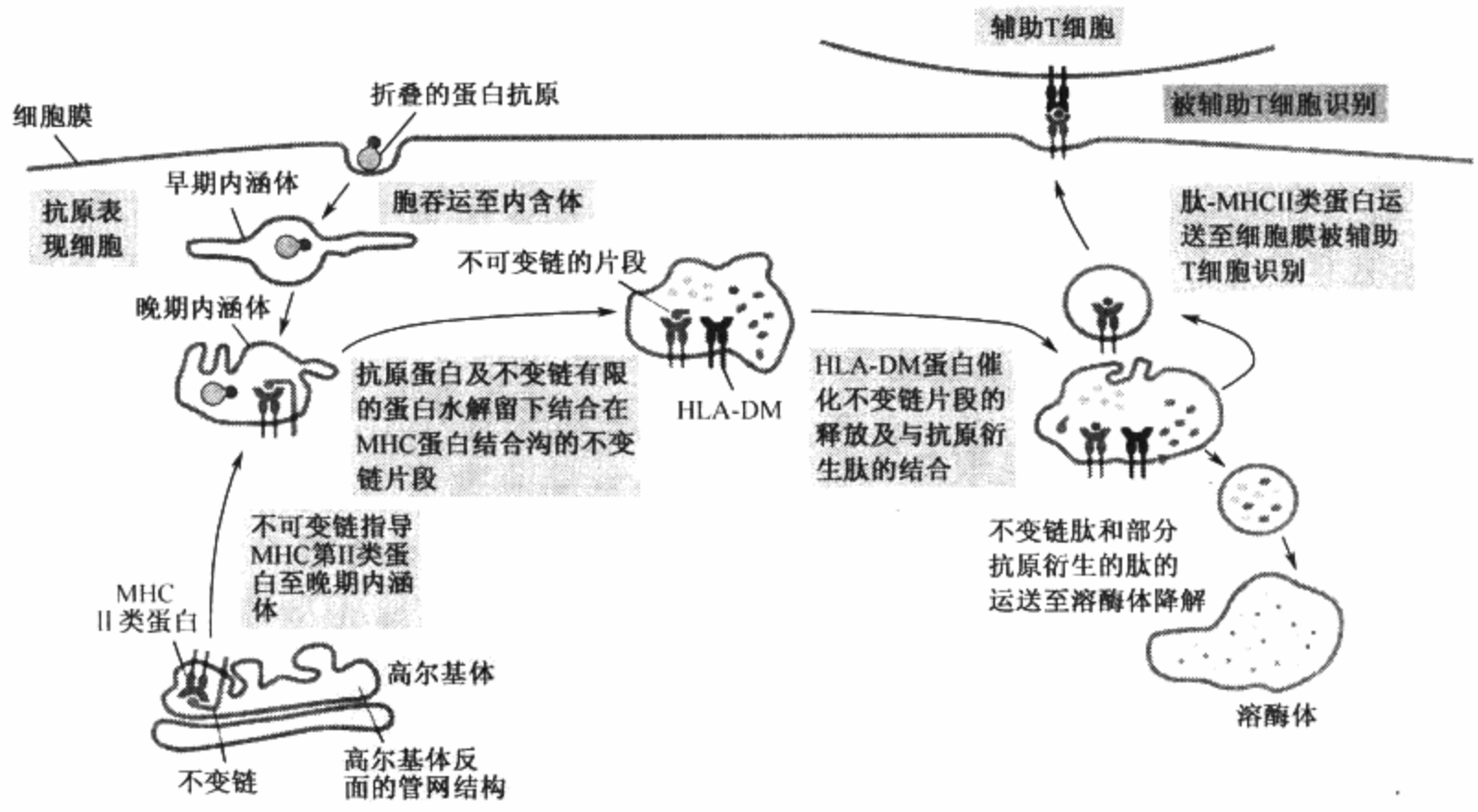


图 24-60　胞外蛋白抗原的加工处理，用于呈递给辅助 T 细胞

图中简要显示怎样在内含体中形成肽-MHC Ⅱ类蛋白复合体并传送至细胞表面。注意，从内含体中的 MHC Ⅱ类蛋白的结合沟释放不变链片段是由一个称为 HLA-DM 的类 MHC Ⅱ类蛋白催化的。也能通过这种途径加工处理病毒糖蛋白以呈递给辅助 T 细胞。它们在内质网产生，被运输至质膜，然后经过内吞作用进入内含体

靶细胞表面的大多数Ⅰ类和Ⅱ类蛋白的结合沟都有来源于自身蛋白质的肽。对Ⅰ类蛋白质，该肽段来自降解的胞质溶胶蛋白和核蛋白。对Ⅱ类蛋白质，它们主要是质膜或细胞外液中的蛋白质被内吞后降解而来的肽段。抗原呈递细胞表面约 10^5 个 MHC Ⅱ类蛋白中只有一

小部分有与之结合的外来肽。不过，这已经足够了，因为若要刺激辅助 T 细胞，这种分子只需要 100 个左右，正如在刺激细胞毒 T 细胞的肽-MHC Ⅰ类复合体中的情况一样。

可能有用的 T 细胞在胸腺中受到正选择

我们已经看到，T 细胞识别与自身 MHC 蛋白结合而不是与外来 MHC 蛋白结合的抗原（图 24-56），即 T 细胞表现出 MHC 限制（MHC restriction）。这种限制起因于胸腺中的 T 细胞在发育过程中的**正选择（positive selection）**过程。在这一过程中，那些以后能识别自身 MHC 蛋白呈递的外来肽的未成熟 T 细胞被选择存活下来，而余下的细胞对动物没有任何作用，将走向细胞凋亡。因此，MHC 限制是免疫系统的一种获得性特性，当 T 细胞在胸腺中发育时出现。

研究选择过程最直接的方式是跟踪一组正在发育中的已知特异性的 T 细胞的命运。这可通过使用转基因小鼠来进行，这种小鼠表达一组来源于已知抗原和 MHC 特异性的 T 细胞克隆的特异重组 T 细胞受体 α 和 β 基因。这类实验显示，只要转基因小鼠也表达转基因 T 细胞受体识别的 MHC 蛋白的相同等位形式，那么转基因 T 细胞就在胸腺成熟并在外周淋巴器官定居。如果小鼠不表达适当的 MHC 蛋白，那么转基因 T 细胞就在胸腺中死亡。因此，一个 T 细胞的存活和成熟依赖于其受体和胸腺中表达的 MHC 蛋白之间的匹配。利用 MHC 的表达局限于胸腺中特殊细胞类型的转基因小鼠的类似试验表明，胸腺皮质中上皮细胞上的 MHC 蛋白负责这种正选择过程。在经过正选择的 T 细胞离开胸腺后，它们的继续存活依赖于它们持续不断的受到自身肽-MHC 复合体的刺激，这种刺激足以促进细胞的存活，但不足以激活 T 细胞转变成效应细胞。

作为胸腺中正选择过程的一部分，表达识别 MHC Ⅰ类蛋白的受体的发育 T 细胞被选择用于转变成细胞毒细胞，而表达识别 MHC Ⅱ类蛋白的受体的则被选择用于转变成辅助细胞 T 细胞。因此，缺乏细胞表面 MHC Ⅰ类蛋白的遗传工程小鼠特异性地缺乏细胞毒 T 细胞，而缺乏 MHC Ⅱ类蛋白的小鼠特异性地缺乏辅助 T 细胞。正经历正选择的细胞最初表达 CD4 和 CD8 共受体，这些都是选择过程所需要的：如果没有 CD4，辅助 T 细胞就不能发育，而没有 CD8，细胞毒 T 细胞就不能发育。

正选择仍留下一个大问题有待解决。如果其上有识别与自身 MHC 蛋白结合的自身肽的受体的发育，T 细胞注定要在胸腺中成熟，并迁移至外周淋巴组织，那么它们可能造成极大破坏。为了帮助避免这种潜在的灾难，胸腺中还必须有另一种负选择过程。

能被自身肽活化的许多发育中的 T 细胞在胸腺中被剔除

如前面所讨论的，获得性免疫系统的基本特征是它能区分自己和非己，并且通常不会对自身分子做出反应。获得这种免疫学自身耐受状态（immunological self tolerance）的一个重要机制是，剔除胸腺中正在发育的自身反应性 T 细胞，即其受体与自身肽和自身 MHC 蛋白的复合体的结合强烈到足以被激活的 T 细胞。如我们稍后将会讨论到的，因为大多数 B 细胞都需要辅助 T 细胞对抗原做出应答，所以自身反应性辅助 T 细胞的剔除也有助于确保逃离 B 细胞耐受诱导的自身反应性 B 细胞是无害的。

因此，对胸腺来说，选择性地保留识别自身 MHC 蛋白的 T 细胞是不够的，它还必须选择性地排除能被自身抗原和自身 MHC 蛋白复合体激活的 T 细胞。换句话说，它必须仅仅挑选出那些能对自身 MHC 蛋白和外来肽复合体做出反应的 T 细胞，使之存活下来，即使这些肽在发育的胸腺中并不出现。一般认为，这些 T 细胞在胸腺中和正运送与 T 细胞受体不匹配

的自身肽的自身 MHC 蛋白微弱结合。因此，达到所要求的目标可通过①保证在胸腺中与自身肽-MHC 复合体强烈结合的 T 细胞的死亡；②促进那些微弱结合的 T 细胞存活；③允许那些根本不结合的细胞死亡。过程②是我们刚讨论过的正选择。过程①被称为**负选择（negative selection）**。在这两种死亡过程中，死亡的细胞都经历细胞凋亡（图 24-61）。

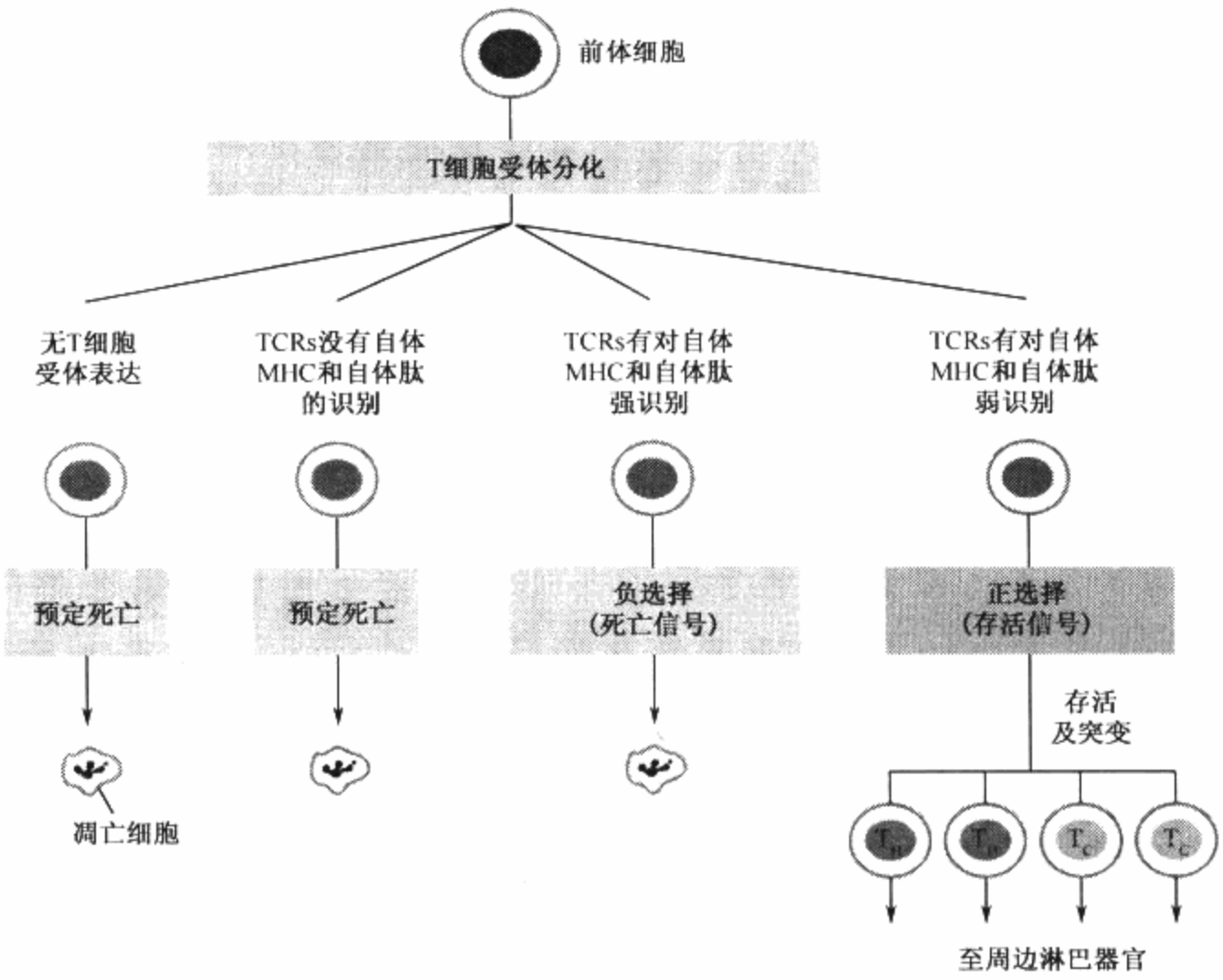


图 24-61　胸腺中的正选择和负选择

细胞如果具有使之能应答与自身 MHC 蛋白结合的外来肽的受体，那么它们就会生存下来，成熟并迁移至外周淋巴器官。所有其他细胞都会经历细胞凋亡。经历正选择的细胞最初表达 CD4 和 CD8 共受体。在正选择过程中，辅助 T 细胞（T_H）和细胞毒 T 细胞（T_C）通过一个尚不充分了解的机制分道扬镳。在这一过程中，辅助 T 细胞发育为表达 CD4 而不是 CD8，并识别与 MHC Ⅱ类蛋白结合的外来肽，而细胞毒 T 细胞发育为表达 CD8 而不是 CD4，并识别与 MHC Ⅰ类蛋白结合的外来肽（图中未显示）

最令人信服的负选择证据也是来自转基因小鼠实验。例如，在导入编码一个识别雄性特异肽抗原的受体的 T 细胞受体转基因后，大量表达转基因受体的成熟 T 细胞在雌性小鼠的胸腺和外周淋巴器官中被发现。然而，在雄性小鼠中很少发现，它们的细胞在有机会成熟之前已在胸腺中死亡。与正选择类似的是，负选择需要 T 细胞受体和结合适当 MHC 蛋白的 CD4 或 CD8 共受体之间的相互作用。然而，与正选择主要发生胸腺上皮细胞表面不同的是，负选择发生在胸腺树突状细胞和巨噬细胞表面，我们已经看到，这些细胞在外周淋巴器官中起到抗原呈递细胞的作用。

胸腺中自反应 T 细胞的剔除不能清除所有潜在的自反应性 T 细胞，因为一些自反应分子在胸腺中并不出现。因此，一些潜在的自反应性 T 细胞在离开胸腺后被剔除和在功能上失活，大概是因为它们识别与树突状细胞表面的 MHC 蛋白结合的自身抗原，这些树突状细胞没有被微生物激活，因此不提供共刺激信号。稍后我们会讨论到，没有共刺激信号的抗原识

别能将 T 细胞或 B 细胞剔除或使之失活。

然而，一些潜在的自反应性 T 细胞不被剔除或失活。而是认为，有专门的调控 T 细胞（regulatory T cell）或抑制 T 细胞（suppressor T cell）通过分泌抑制性细胞因子，如 TGF-β 使之避免对其自身抗原做出应答（讨论见第 15 章）。这些自反应性 T 细胞有时可能从这种抑制中逃出，并引起自身免疫性疾病。

MHC 蛋白的功能解释其多态性

MHC 蛋白在结合外来肽并将它们呈递给 T 细胞中的作用解释了这些蛋白质的广泛多肽性。在病源微生物和获得性免疫系统之间的进化战中，微生物易于改变其抗原以避免与 MHC 蛋白结合。当一个微生物获得成功时，它就能以流行病形式袭击整个种群。在这种情况下，产生能与变异微生物的一种抗原结合的新 MHC 蛋白的少数几个个体具有很大的选择优势。另外，在任何给定的 MHC 位点都有两个不同等位基因的个体（杂合子）比在该位点有完全相同的等位基因的个体更有可能抵抗感染，因为它们更有能力呈递来自许多微生物和寄生虫的肽。因此，选择将倾向于增加并维持群体中 MHC 蛋白的巨大多样性。感染性疾病为 MHC 的多样性提供了驱动力，对这一假设的强有力支持来自在西非进行的研究。此时，人们发现，携带有一个特异 MHC 等位基因的个体降低了对一种严重的疟疾类型的易感性。尽管该等位基因在其他地方罕见，但却在 25%的西非人群中发现，而且在此人群中，这种疟疾类型是常见的。

如果更大的 MHC 多样性意味着对感染的更大抗性，那么为什么我们每个人编码这些分子的 MHC 基因会如此少呢？为什么没有进化出增加 MHC 蛋白多样性的策略，例如，通过选择性 RNA 拼接，或者通过用于使抗体和 T 细胞受体多样化的遗传重组机制？据推测，这些限制的存在可能是因为每增加一个新 MHC 蛋白到蛋白质库，识别与新 MHC 蛋白结合的自身抗原的 T 细胞必须被清除，以维持其自身耐受。这些 T 细胞的清除抵消了增加新 MHC 蛋白的优点。因此，我们表达的 MHC 蛋白的数目可能代表了将多种外来肽呈递给 T 细胞的优点和在胸腺负选择期间严重限制 T 细胞库的缺点之间的一种平衡。这种解释得到了计算机模型设计研究的支持。

小结

T 细胞可分为功能明显不同的两大类：细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞。细胞毒 T 细胞通过诱发细胞凋亡直接杀死被感染的细胞，而辅助 T 细胞则帮助激活 B 细胞以产生抗体应答和激活巨噬细胞以破坏侵入巨噬细胞的微生物或被巨噬细胞摄入的微生物。辅助 T 细胞还帮助激活细胞毒 T 细胞。两类 T 细胞都表达细胞表面类抗体受体，它们的编码基因是 T 细胞在胸腺发育期间由多基因片段组装而成。这些受体识别与 MHC 蛋白结合并展示在宿主细胞表面的外来蛋白质片段。细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞在外周淋巴器官由抗原呈递细胞激活，抗原呈递细胞在其细胞表面表达肽-MHC 复合体、共刺激蛋白和各种细胞间黏着分子。

MHC Ⅰ类和 MHC Ⅱ类蛋白分别在呈递外来抗原给细胞毒 T 细胞和辅助 T 细胞中起关键作用。Ⅰ类蛋白在几乎所有脊椎动物细胞表面都有表达，而Ⅱ类蛋白通常局限于与辅助 T 细胞相互作用的那些细胞类型，如树突状细胞、巨噬细胞和 B 淋巴细胞。两类 MHC 蛋白各有一个唯一的肽结合沟，结合来源于蛋白质的小肽片段。每个 MHC 蛋白都能结合一大组特征性的肽，这些肽在胞内通过蛋白质降解产生：MHC Ⅰ类蛋白通常与胞质溶胶中产生的肽段结合，而 MHC Ⅱ类蛋白则与内吞泡中产生的肽段结合。肽-MHC 复合体在靶细胞内形成

之后即被转运至细胞表面。含有来源于外来蛋白质的肽的复合体被 T 细胞受体（与肽和肽结合沟的壁相互作用）识别。T 细胞也表达 CD4 或 CD8 共受体，识别靶细胞表面 MHC 蛋白的非多态性区域：辅助 T 细胞表达 CD4（识别 MHC Ⅱ类蛋白），而细胞毒 T 细胞表达 CD8（识别 MHC Ⅰ类蛋白）。

T 细胞受体库主要是由胸腺中的 T 细胞在发育过程中起作用的正选择和负选择过程综合形成的。这些过程有助于确保只有那些其上存在可能有用的受体的 T 细胞能存活下来并发育成熟，而其他 T 细胞则通过细胞凋亡而死亡。若 T 细胞对与自身 MHC 蛋白形成复合体的外来抗原做出应答，则受到正选择，若 T 细胞对与自身 MHC 蛋白形成复合体的自身肽做出应答，则被清除。T 细胞上若有能与胸腺中不表达的自身抗原发生强烈反应的受体，那么它将被清除、功能失活或在离开胸腺后处于抑制状态。

辅助 T 细胞和淋巴细胞的激活

可以论证的是，辅助 T 细胞是获得性免疫中最重要的细胞，因为它们为几乎所有获得性免疫应答所必需。它们不但帮助激活 B 细胞以分泌抗体，激活巨噬细胞以破坏摄入的微生物，而且它们还能帮助激活细胞毒 T 细胞以杀死被感染的靶细胞。例如，在艾滋病患者中戏剧性展示的那样，如果没有辅助 T 细胞，我们就不能使我们自己防御甚至在正常情况下无害的许多微生物。

然而辅助 T 细胞本身只有在被激活成为效应细胞时才能发挥作用。它们在抗原呈递细胞表面被激活，抗原呈递细胞是在由感染触发的天然免疫应答过程中成熟的。天然应答还指挥辅助 T 细胞发育成哪种效应细胞，从而决定所诱导的获得性免疫应答的性质。

在这最后一节中，我们讨论帮助激活 T 细胞多种信号，以及一个辅助 T 细胞一旦被激活成为一个效应细胞，它又怎样帮助激活其他细胞。我们也考虑天然免疫应答怎样通过刺激辅助 T 细胞分化成 T_H1 或 T_H2 效应细胞来决定获得性免疫应答的性质。

抗原呈递细胞表面的共刺激蛋白帮助激活 T 细胞

为了激活细胞毒 T 细胞或辅助 T 细胞增殖、分化成效应细胞，抗原呈递细胞提供两类信号。第一类信号由与呈递细胞表面的 MHC 蛋白结合的外来蛋白质提供。这种肽-MHC 复合体通过 T 细胞受体及其相关蛋白质传递信号。第二类信号由共刺激蛋白提供，尤其是 **B7 蛋白**（CD80 和 CD86），它们被 T 细胞表面的共受体蛋白 **CD28** 识别。抗原呈递细胞上 B7 蛋白的表达是在感染的天然应答期间由病原体诱导。效应 T 细胞反过来促进抗原呈递细胞上 B7 蛋白的表达，产生一个增强 T 细胞应答的正反馈环。

一般认为，第二类信号扩大由第一类信号触发的胞内信号传递过程。如果一个 T 细胞收到第一类信号而没有第二类信号，那么它可能发生细胞凋亡或变异，因而不能再被激活，即使它后来收到两种信号（图 24-62）。这是 T 细胞对自身抗原产生耐受的一种机制。

T 细胞受体不会单独行动将第一类信号传入细胞内。它与一组固定的复杂跨膜蛋白 **CD3** 结合，这些蛋白质将肽-MHC 复合体的结合转换成胞内信号（图 24-63）。另外，CD4 和 CD8 共受体在信号转导过程中起重要作用，如图 24-64 所示。

第一类信号和第二类信号结合，共同刺激 T 细胞增殖，并通过一种奇特的间接机制分化形成效应细胞。在培养基中，它们诱导细胞分泌一种细胞因子——**白细胞介素 2（interleukin-2，IL-2）** 并且同时合成与之结合的高亲和力细胞表面受体，从而引起 T 细胞刺激其本身的增

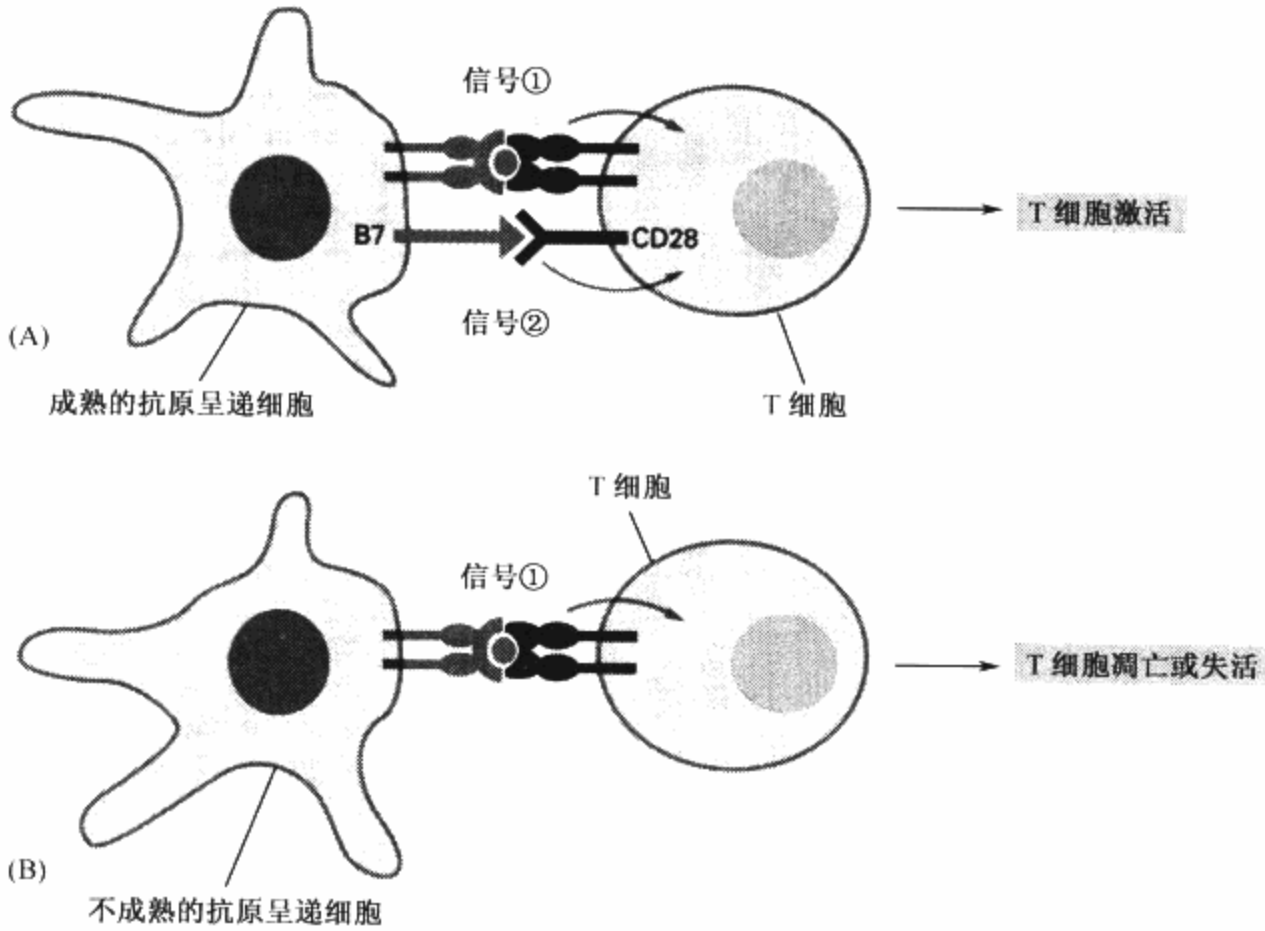


图 24-62　活化辅助 T 细胞的两类信号

（A）一个成熟的抗原呈递细胞能传递第一类信号和第二类信号，从而激活 T 细胞。（B）一个未成熟的抗原呈递细胞能传递第一类信号，而不传递第二类信号，它能杀死或失活 T 细胞；这是对自身抗原免疫耐受的一种机制。有关第二类信号的作用的一个模型是，它诱导 T 细胞质膜上的信号传递蛋白主动运输至 T 细胞和抗原呈递细胞之间的接触位点。一般认为，T 细胞受体周围的信号传递蛋白的积累大大增强第一类信号活化的信号传递过程的强度和持续时间。通过这种途径，“免疫学突触”在接触区形成，其中 T 细胞受体（及其相关蛋白质；图 24-63）和共受体位于中间，细胞间黏着蛋白形成一个外周环（图中未显示）

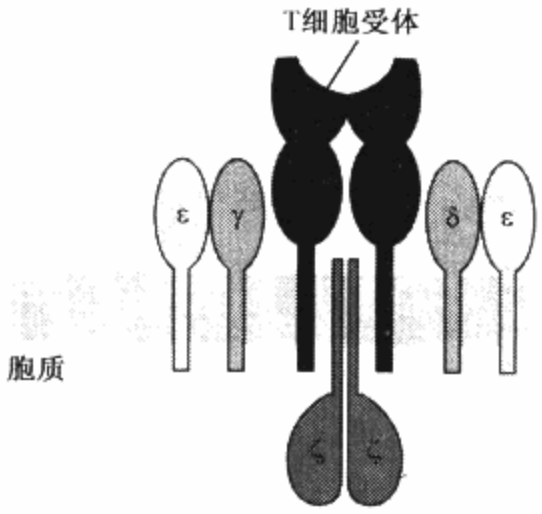


图 24-63　T 细胞受体及其相关 CD3 复合体

所有的 CD3 多肽链（绿色），除了 ζ 链，都有胞外类 Ig 结构域，因此都是 Ig 超家族的成员

殖和分化。IL-2 与 IL-2 受体的结合激活胞内信号转导通路，从而打开帮助 T 细胞增殖、分化成为效应细胞的基因（图 24-65）。如第 15 章中所讨论的，这样一种自分泌机制有其优点。它有助于确保，只有当大量 T 细胞在相同部位（如感染期间的淋巴结）对抗原同时做出应答时，它们才分化形成效应细胞。只有在那个时候，IL-2 的水平才升高到足以发挥效应。

一旦与一个抗原呈递细胞结合，T 细胞就通过激活一个称为淋巴细胞功能相关蛋白 1（lymphocyte-function-associated protein 1，LFA-1）的整合蛋白黏着蛋白增加结合力。此时，活化的 LFA-1 与其类 Ig 配基——呈递细胞表面的胞内黏着蛋白 1（intracellular adhesion molecule 1，ICAM-1）更强烈地结合。这种黏着的增强使 T 细胞与抗原呈递细胞的结合持续时间长到足以激活该 T 细胞。

T 细胞的活化受到负反馈调控。在活化过程中，细胞开始表达另一种细胞表面蛋白

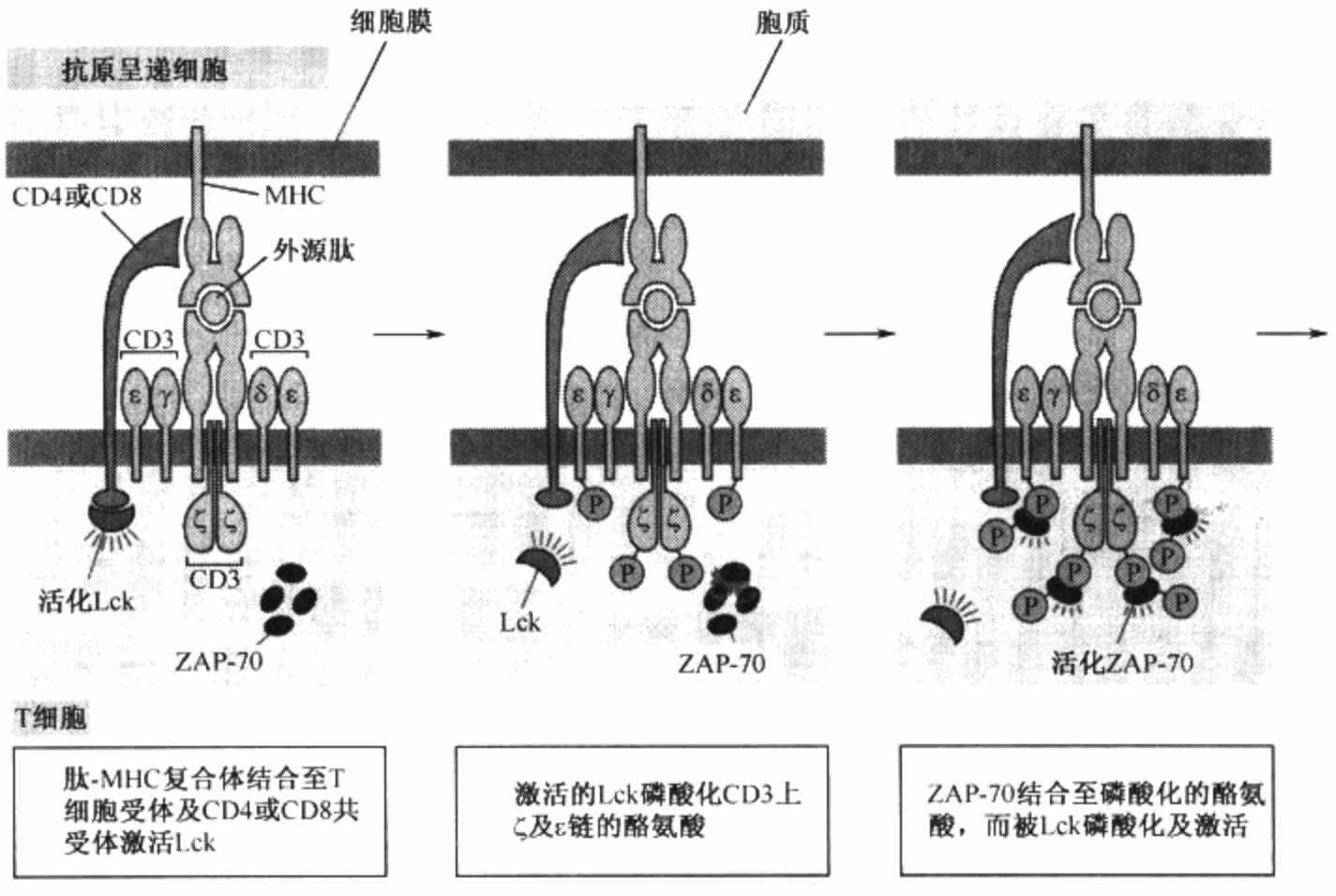


图 24-64　通过肽-MHC 复合体与 T 细胞受体结合而启动的信号转导事件（第一类信号）

当 T 细胞受体通过与抗原呈递细胞表面的肽-MHC 复合体结合而簇集时，辅助 T 细胞上的 CD4 分子或细胞毒 T 细胞上的 CD8 分子与它们簇集在一起，分别与抗原呈递细胞上相同 MHC Ⅱ类或 MHC Ⅰ类蛋白的不变部分结合。这使得类 Srv 胞质酪氨酸激酶 Lck 加入信号传递复合体并激活 Lck。一旦被激活，Lck 就磷酸化 CD3 复合体的 ζ 和 ε 链上的酪氨酸，此时它充当另一个胞质酪氨酸激酶 ZAP-70 的锚定位点。Lck 磷酸化并由此而激活 ZAP-70。尽管图中没有显示，但是，接着 ZAP70 磷酸化位于另一个跨膜蛋白尾上的酪氨酸，此时这一跨膜蛋白充当许多接头蛋白和酶的锚定位点。然后，这些蛋白质通过激活肌醇磷脂和 MAP 激酶信号传递通路（讨论见第 15 章）以及调节激动蛋白细胞骨架的 ρ 家族 GTPase（讨论见第 16 章），帮助继续传递信号给细胞核和细胞的其他部分

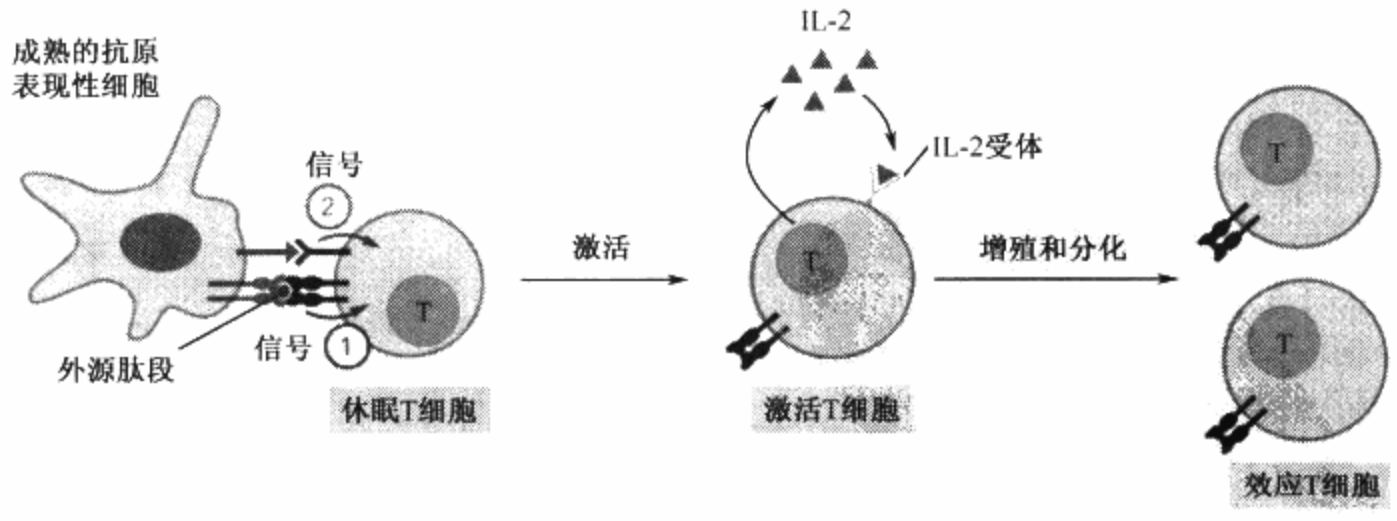


图 24-65　IL-2 激活培养中的 T 细胞

第一类信号和第二类信号激活 T 细胞产生高亲和力 IL-2 受体并分泌 IL-2。IL-2 与其受体的结合帮助激活细胞进行增殖，并分化为效应细胞。尽管一些 T 细胞不产生 IL-2，但是，只要它们被抗原激活并因此而表达 IL-2 受体，邻近 T 细胞产生的 IL-2 就能帮助它们增殖和分化（图中未显示）

质——抑制胞内信号传递的 CTLA-4。它与 CD28 类似，但与 CD28 相比，它以高得多亲和力与抗原呈递细胞表面的 B7 蛋白结合。当它与 B7 蛋白结合时，就会抑制活化过程。携带有断裂的 CTLA-4 基因的小鼠死于活化 T 细胞的大量积累。

大多数在免疫应答期间产生的 T（和 B）效应细胞在它们完成任务时必须被清除。随着抗原水平的下降和应答的消退，效应细胞就失去了它们生存所需要的抗原和细胞因子刺激，大多数效应细胞通过细胞凋亡而死亡。只有记忆细胞和一些长寿效应细胞存活下来。

表 24-3 总结了在 T 细胞表面发现的一些共受体和其他辅助蛋白质。

表 24-3　T 细胞表面的一些辅助蛋白

蛋白质*	超家族	表　达	靶细胞上的配基	功　能
CD3 复合体	Ig（ζ除外）	所有 T 细胞	—	当抗原-MHC 复合体结合至 T 细胞受体时，帮助转换信号；帮助将 T 细胞受体运送至细胞表面
CD4	Ig	辅助 T 细胞	MHC Ⅱ类分子	促进黏附至抗原呈递细胞和靶细胞；给 T 细胞发送信号
CD8	Ig	细胞毒 T 细胞	MHC Ⅰ类分子	促进黏附至抗原呈递细胞和被感染的靶细胞；给 T 细胞发送信号
CD28	Ig	大部分 T 细胞	B7 蛋白（CD80 和 CD86）	给一些 T 细胞提供第二类信号
CTLA	Ig	活化的 T 细胞	B7 蛋白（CD80 和 CD86）	抑制 T 细胞活化
CD40 配基	Fas 配基家族	辅助效应 T 细胞	CD40	帮助激活巨噬细胞和 B 细胞的共刺激蛋白
LFA-1	整合蛋白	大部分白细胞，包括所有 T 细胞	ICAM-1	促进细胞间黏着

* CD 代表分化抗原簇，由于每个 CD 蛋白最初被定义为被多种单克隆抗体识别的血细胞“分化抗原”。它们的鉴定依赖于大规模的合作研究。在这些研究中，由许多实验室制备的数百种单克隆抗体经过比较后发现，它们是由相对少数的几组（或“簇”）组成，每组识别单个细胞表面蛋白。然而，即使是这种最初的研究，也鉴定出了 150 多个 CD 蛋白。

在考虑辅助效应 T 细胞怎样帮助激活巨噬细胞和 B 细胞之前，我们必须讨论辅助效应 T 细胞功能明显不同的两个亚类——T_H1 和 T_H2 细胞，以及它们是怎样产生的。

辅助效应 T 细胞的亚类决定获得性免疫应答的性质

在外周淋巴组织中，当抗原呈递细胞激活童贞辅助 T 细胞时，T 细胞就能分化成为 T_H1 或 T_H2 辅助效应细胞。这两种功能明显不同的辅助效应 T 细胞亚类可通过它们分泌的细胞因子来辨别。如果细胞分化成 **T_H1 细胞**，那么它将分泌 γ 干扰素（IFN-γ）和 α 肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor-α，TNF-α），激活巨噬细胞杀死定居于巨噬细胞的吞噬体中的微生物。尽管 T_H1 通过这些途径主要是使动物防御胞内病原体，但是它们也可能刺激 B 细胞分泌特殊亚类的 IgG 抗体，包裹胞外微生物并激活补体。

如果童贞辅助 T 细胞分化成 **T_H2 细胞**，它将分泌白细胞介素 4、5、10 和 13（IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13），并且主要是使动物防御胞外病原体。T_H2 细胞能刺激 B 细胞产生大部分类型的抗体，包括与肥大细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞结合的 IgE 和 IgG 抗体的一些

亚类。这些细胞释放局部介质，引起喷嚏、咳嗽或腹泻，并帮助从身体的上皮细胞表面排除胞外微生物和较大的寄生虫。

因此，童贞辅助 T 细胞是分化成 T_H1 还是 T_H2 效应细胞的决定影响将要建立的获得性免疫应答的类型——它是受到巨噬细胞激活的支配还是受到抗体产生的支配。在辅助 T 细胞激活过程中出现的特殊细胞因子影响所产生的效应细胞的类型。感染部位的微生物不但刺激树突状细胞产生细胞表面 B7 共刺激蛋白，而且还激活它们产生细胞因子。然后，树突状细胞迁移至外周淋巴器官，并根据树突状细胞产生的细胞因子类型激活童贞辅助 T 细胞是分化成 T_H1 还是 T_H2 效应细胞。例如，一些胞内细菌刺激树突状细胞产生 IL-12，促进 T_H1 的发育从而促进巨噬细胞活化。正如所料，IL-12 或其受体有缺陷的小鼠比正常小鼠对这些细菌的感染要容易得多。相反，许多寄生原生动物和蠕虫刺激产生促进 T_H2 发育的细胞因子，从而刺激抗体产生和嗜酸性粒细胞活化，导致寄生虫排除（图 24-66）。

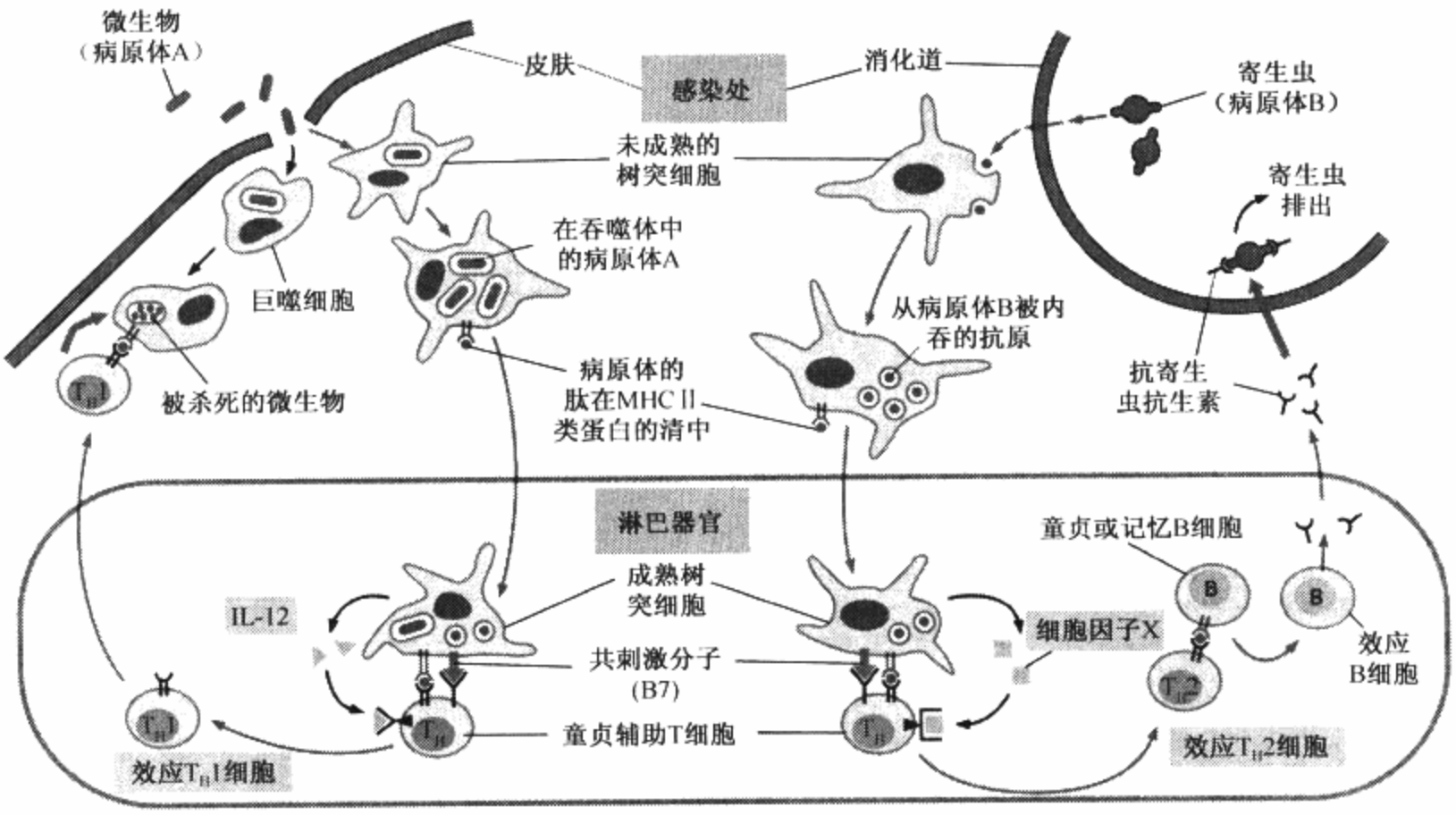


图 24-66　T_H1 和 T_H2 细胞的激活

辅助 T 细胞分化成 T_H1 或 T_H2 效应细胞决定这些效应细胞激活的后续获得性免疫应答的性质。童贞辅助 T 细胞是变成 T_H1 细胞或还是 T_H2 细胞，主要依赖于在辅助 T 细胞被外周淋巴器官中成熟树突状细胞激活时所存在的细胞因子。所产生的细胞因子的类型依赖于，局部环境和在感染部位激活未成熟树突状细胞的微生物或寄生虫的特性。由成熟树突状细胞产生的 IL-12 促进 T_H1 细胞的发育。由树突状细胞产生的、促进 T_H2 细胞发育的细胞因子（细胞因子 X）尚不知晓，尽管由 T 细胞产生的 IL-4 能起这种作用。在本图中，在外周淋巴器官中产生的效应 T_H1 细胞迁移至感染部位，并帮助巨噬细胞杀死它吞噬的微生物。效应 T_H2 细胞仍留在淋巴结，帮助激活 B 细胞产生抗寄生虫的抗体。这些抗体武装肥大细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞（图中未显示），然后这些细胞帮助将寄生虫从肠道驱逐出来

一旦 T_H1 或 T_H2 效应细胞发育，它就抑制其他类型辅助 T 细胞的分化。T_H1 细胞产生的 IFN-γ 抑制 T_H2 细胞的发育，而 T_H2 细胞产生的 IL-4 和 IL-10 又抑制 T_H1 细胞的发育。因此，随着应答的进行，最初选择的应答类型得到加强。

T_H1/ T_H2 决定的重要性是由感染麻风分枝杆菌（*Mycobacterium leprae*）（引起麻风病的细菌）的个体来说明的。细菌复制主要是在巨噬细胞进行并引起两种疾病形式中的任何一

种，究竟发生哪种疾病形式主要依赖于被感染个体的遗传构成。在一些患者中，发生结核病样形式（tuberculoid form）的疾病。T_H1 细胞发育，然后刺激被感染的巨噬细胞杀死细菌。这产生一个局部炎症应答，损害皮肤和神经。结果是形成一种进展缓慢但并不杀死宿主的慢性病。相反，在其他患者中，则发生麻风结节形式（lepromatous form）的疾病。T_H2 细胞发育，然后刺激抗体的产生。当抗体不能穿过质膜攻击胞内细菌时，细菌的增殖不受抑制，最终杀死宿主。

T_H1 细胞在感染位点帮助激活巨噬细胞

T_H1 细胞受到在其胞内囊泡中隐藏有微生物的抗原呈递细胞的优先诱导。例如，引起结核病的细菌主要在巨噬细胞的吞噬体中复制，在此它们免受抗体攻击。它们也不易受到细胞毒 T 细胞的攻击，这些 T 细胞主要识别胞质溶胶中产生的外来抗原（图 24-58）。细菌能在吞噬体中存活是因为，它们抑制吞噬体和溶酶体的融合以及吞噬体的酸化，后者是激活溶酶体水解酶所必需的。被感染的树突状细胞招募辅助 T 细胞，协助杀死这类微生物。树突状细胞迁移至外周淋巴器官，在此刺激 T_H1 细胞的产生，然后 T_H1 细胞迁移至感染部位，帮助激活被感染的巨噬细胞杀死隐藏在其吞噬体中的微生物（图 24-66）。

T_H1 效应细胞使用两种信号激活巨噬细胞。T_H1 细胞分泌 IFN-γ，与巨噬细胞表面的 IFN-γ 受体结合，它们还展示共刺激蛋白 CD40 配基，与巨噬细胞表面的 CD40 结合（图 24-67）（我们稍候就会看到，CD40 配基也被辅助 T 细胞用于激活 B 细胞）。一旦被激活，巨噬细胞就能杀死它所含的微生物，此时，溶酶体更易于吞噬体融合，发动水解攻击，激活的巨

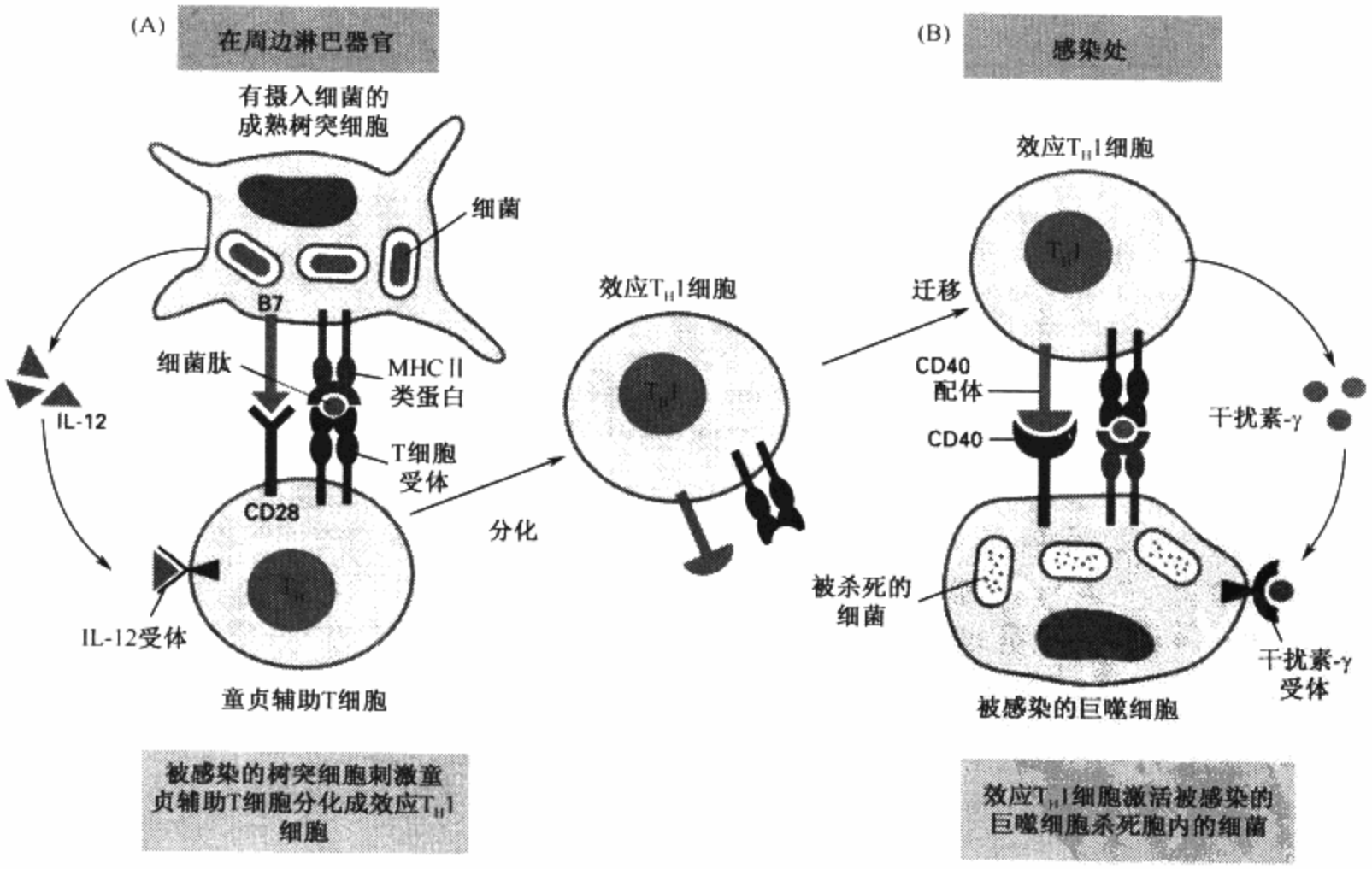


图 24-67　T_H1 细胞的分化及其激活巨噬细胞

（A）从感染部位迁移至外周淋巴器官的被感染树突状细胞利用细胞表面的 B7 和分泌的 IL-12 刺激童贞辅助 T 细胞分化成 T_H1 效应细胞。（B）从外周淋巴器官迁移至感染部位的 T_H1 效应细胞帮助激活巨噬细胞，以杀死隐藏在巨噬细胞吞噬体内的细菌。T 细胞通过其表面的 CD40 配基和分泌的 γ 干扰素激活巨噬细胞

噬细胞产生氧自由基和氧化氮，二者对微生物都有很高的毒性（讨论见第 25 章）。因为树突状细胞也表达 CD40，所以在感染部位的 T_H1 细胞也能帮助激活它们。因此，树突状细胞产生更多的 MHC Ⅱ类蛋白、B7 共刺激蛋白和各种细胞因子，尤其是 IL-12。这使它们更有效地刺激外周淋巴器官中的辅助 T 细胞分化成 T_H1 效应细胞，提供一个增加 T_H1 细胞产量的正反馈抑制环，从而激活巨噬细胞。

T_H1 效应细胞通过招募更多的吞噬细胞进入感染部位来刺激炎症应答。它们通过三种途径进行：

1. 它们分泌细胞因子，作用于骨髓，增加单核细胞（血液中循环的巨噬细胞前体）和中性粒细胞的产量。

2. 它们分泌其他细胞因子，激活沿局部血管排列的内皮细胞表达细胞黏着分子，使得血液中的单核细胞和中性粒细胞黏附于此。

3. 它们分泌趋化因子，指导附着的单核细胞和中性粒细胞从血管迁移进入感染部位。

通过刺激树突状细胞产生更多的共刺激蛋白，T_H1 细胞也能帮助激活外周淋巴器官中的细胞毒 T 细胞。另外，通过分泌 IFN-γ，它们能帮助细胞毒效应 T 细胞杀死病毒感染的靶细胞，因为 IFN-γ 提高靶细胞处理病毒抗原以呈递给细胞毒 T 细胞的效率（图 24-59）。效应 T_H1 细胞本身也能直接杀死一些细胞，包括效应淋巴细胞：通过在其表面表达 Fas 配基，它能诱导那些表达细胞表面 Fas 的效应 T 细胞或 B 细胞发生细胞凋亡［图 24-46（B）］。

T_H1 和 T_H2 细胞都能帮助刺激 B 细胞增殖、分化成分泌抗体的效应细胞或记忆细胞。它们也能刺激 B 细胞转换它们产生的抗体类别，从 IgM（和 IgD）转换到抗体次级类中的一种。在考虑辅助 T 细胞怎样执行这项功能之前，我们必须讨论 B 细胞抗原受体在 B 细胞激活中的作用。

抗原结合给 B 细胞提供第一个信号

与 T 细胞类似，B 细胞的活化需要两种类型的胞外信号。第一类信号由与抗原受体结合的抗原提供，抗原受体是一种膜结合抗体分子。第二类信号通常由辅助 T 细胞提供。像 T 细

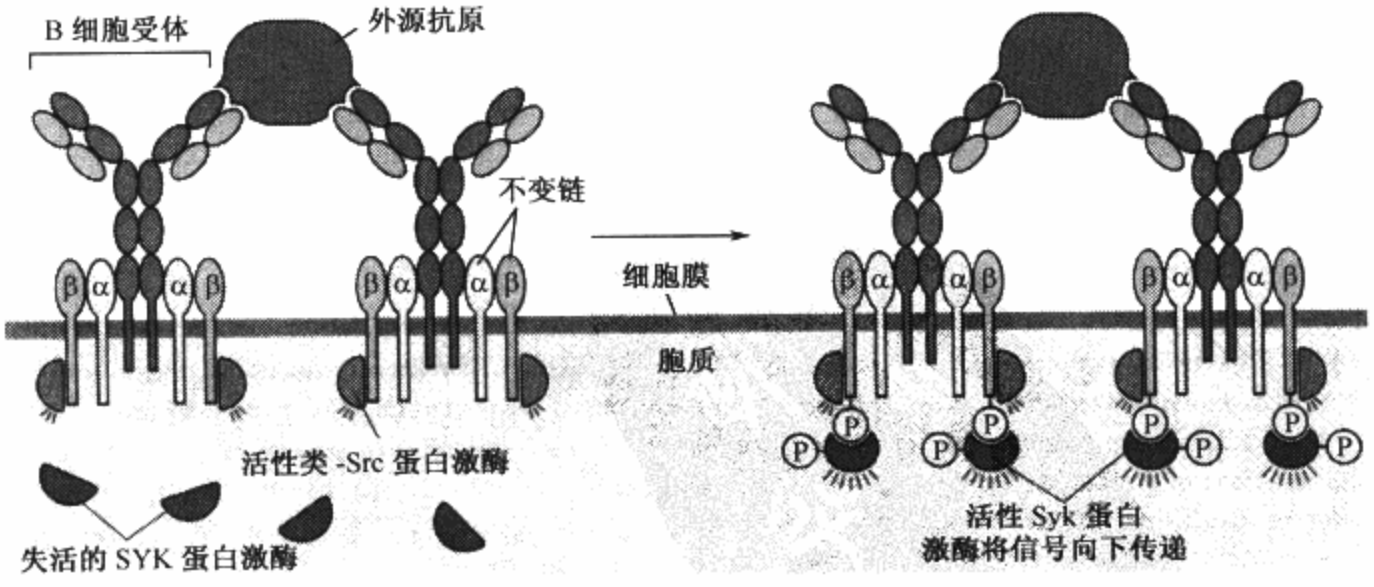


图 24-68　由抗原和 B 细胞受体的结合而激活的信号转导事件（第一类信号）

抗原与临近的受体蛋白——跨膜的抗体分子交联，使受体和与之伴随的不变链（Igα 和 Igβ）聚集。与 Igβ 的胞质尾相关联的类 Src 酪氨酸激酶连接此聚集体，并使 Igα 和 Igβ 磷酸化（为简单起见，图中仅显示 Igβ 的磷酸化）。由此而得到的 Igα 和 Igβ 上的磷酸酪氨酸充当另一个与 T 细胞中的 ZAP-70 同源的类 Src 酪氨酸激酶 Syk 的锚定位点（图 24-64）。与 ZAP-70 类似，Syk 被磷酸化，继而将信号向下游传递

胞一样，如果一个 B 细胞只收到第一类信号，那么它通常会被清除或者其功能被失活，这是 B 细胞对自身抗原耐受的一种途径。

通过 B 细胞抗原受体的信号传递与通过 T 细胞受体的信号传递以相同的方式起作用（图 24-64）。该受体与两条不变蛋白质链 Igα 和 Igβ 结合，帮助将抗原与受体的结合转换成胞内信号。当抗原与 B 细胞表面的受体交联时，它使受体和与之伴随的不变链聚集成为小聚合体。这种聚合导致胞内信号转导复合体在聚集受体的位点进行装配和磷酸化级联反应的起始（图 24-68）。

正如 T 细胞上的 CD4 和 CD8 共受体通过 T 细胞受体增强信号转导效率一样，与补体蛋白结合的共受体复合体通过 B 细胞抗原受体和与之相伴的不变链大大增强信号转导的效率。如果一个微生物激活补体系统（讨论见第 25 章），那么补体蛋白常常会沉积在微生物表面，大大增加 B 细胞对微生物的应答。此时，当微生物聚集 B 细胞上的抗原受体时，结合补体的共受体复合体（complement-binding co-receptor complex）就被带入聚合体内，增加信号转导的强度［图 24-69（A）］。正如所料，抗体应答在缺乏任何一种必需的补体成分或 B 细胞上的补体受体的小鼠中都会大大降低。

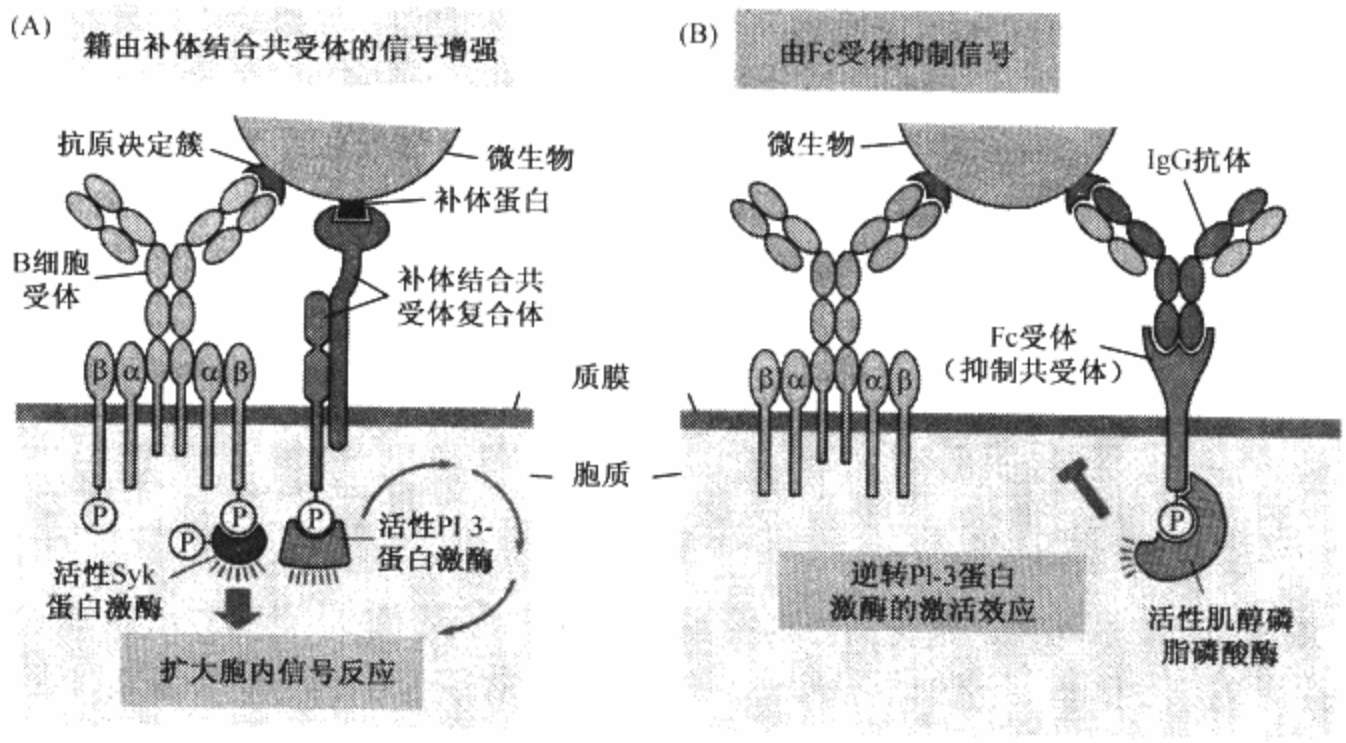


图 24-69　B 细胞共受体对第一类信号效力的影响

（A）微生物-补体复合体与 B 细胞的结合将抗原受体和补体结合的共受体复合体交联。共受体复合体中一个成分的胞质溶胶尾上的酪氨酸被磷酸化，然后它作为 PI 3-激酶的锚定位点。正如在第 15 章中所讨论的，PI 3-激酶被激活，以便在质膜中产生肌醇磷脂锚定位点，招募胞内信号转导蛋白（图中未显示）。这些信号转导蛋白和 Syk 激酶产生的信号一起作用，增强应答。（B）当 IgG 抗体与外来抗原结合（通常在应答晚期）时，抗体的 Fc 区与 B 细胞表面的 F 才受体结合，因此被招募进信号转导复合体。Fc 受体的酪氨酸被磷酸化，然后它用作肌醇磷脂磷酸酶的锚定位点。该磷酸酶使质膜中由 PI 3-激酶产生的肌醇磷脂锚定位点脱磷酸化，从而逆转 PI 3-激酶的激活效应。Fc 受体还通过招募蛋白酪氨酸磷酸酶进入信号转导复合体抑制信号转导（图中未显示）

相反，在免疫应答后期，当 IgG 抗体结合在微生物表面时，一种不同的共受体开始起作用，抑制 B 细胞应答。这些共受体是 Fc 受体，它们与 IgG 抗体的尾部结合。它们招募磷酸酶进入降低信号传递强度的信号传递复合体［图 24-69（B）］。通过这种方式，B 细胞上的 Fc 受体充当抑制性共受体，正如 T 细胞上的 CTLA-4 蛋白一样。因此，T 细胞或 B 细胞上的共受体允许细胞获得与其受体结合的抗原的额外信息，从而对如何应答做出更多信息的决定。

与 T 细胞受体不同，B 细胞上的抗原受体不仅仅是结合抗原和传导第一类信号。它们将

抗原传递给内吞泡，抗原在内吞泡中被降解成肽，与 MHC Ⅱ类蛋白结合，然后返回 B 细胞表面（图 24-60）。接着，肽-MHC Ⅱ类复合体被辅助效应 T 细胞识别，此时，它们才能传递第二类信号。第一类信号使 B 细胞准备与辅助 T 细胞发生相互作用是通过增加 MHC Ⅱ类蛋白和第二类信号受体的表达来实现的。

辅助 T 细胞给 B 细胞提供第二个信号

尽管抗原呈递细胞，如树突状细胞和巨噬细胞，是杂食性的，它们摄入和呈递抗原没有特异性，但是 B 细胞一般只呈递它特异识别的抗原。在初次抗体应答中，童贞辅助 T 细胞在外周淋巴器官被激活是通过结合与树突状细胞表面的 MHC Ⅱ类蛋白结合的外来抗原。辅助效应 T 细胞一经激活，就能活化在其表面展示有外来肽的相同复合体和 MHC Ⅱ类蛋白的 B 细胞（图 24-66）。

B 细胞表面的抗原展示反映了 B 细胞从细胞外液吸收外来抗原的选择性。这些外来蛋白质受到 B 细胞表面的抗原受体的选择，并且通过受体介导的内吞作用被摄入。接着，它们被降解，并以与 MHC Ⅱ类蛋白结合的肽的形式再循环至细胞表面。因此，辅助 T 细胞激活的那些 B 细胞都具有特异识别抗原（最初它激活 T 细胞）的受体，尽管 T 细胞和 B 细胞通常识别抗原分子上明显不同的抗原决定簇（图 24-70）。在次级抗体应答中，记忆 B 细胞本身能充当抗原呈递细胞而激活辅助 T 细胞，同时作为辅助效应 T 细胞随后的靶目标。辅助 T 细胞和 B 细胞的相互增强作用导致免疫应答既强烈又高度特异。

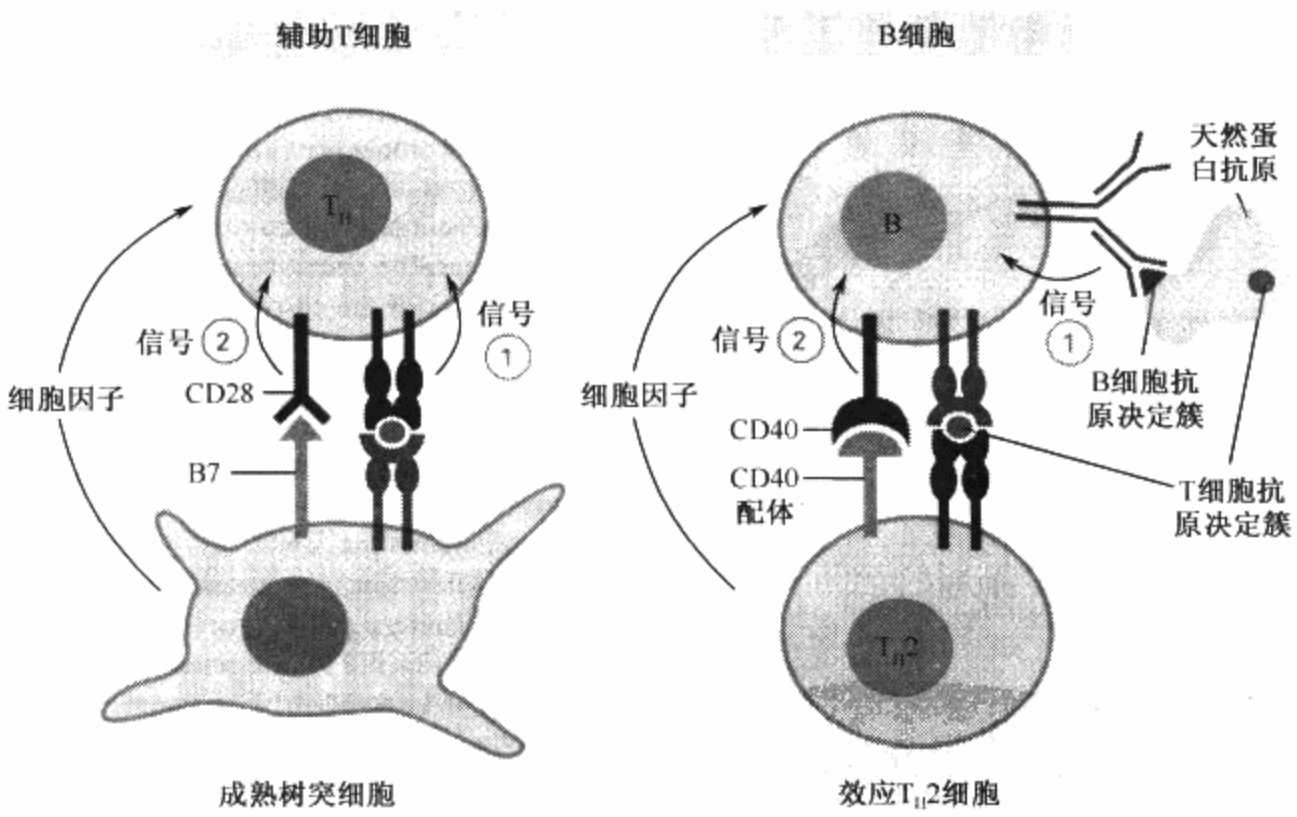


图 24-70　激活辅助 T 细胞和 B 细胞所必需的信号的比较

注意，在两种情况中，分泌的和膜结合的分子能合作产生第二类信号。图中尽管没有显示，但是 CD40 也在成熟树突状细胞表面表达，并帮助维持辅助 T 细胞处于活化状态。天然蛋白抗原被树突状细胞和 B 细胞吞噬，并在内含体中被降解（图中未显示）。T 细胞抗原决定簇以与 MHC Ⅱ类蛋白结合的肽片段形式被展示在树突状细胞和 B 细胞表面。相反，B 细胞识别折叠蛋白表面的抗原决定簇

一旦辅助 T 细胞被激活成为效应细胞并与 B 细胞接触，这种接触就启动了辅助细胞胞质的内部重排。T 细胞引导其中心体和高尔基体指向 B 细胞，正如前面描述的与其靶细胞接触的细胞毒效应 T 细胞（图 24-45）。然而，在这种情况下，一般认为，这种定向能使辅助效应

T 细胞提供第二类信号是通过指引膜结合的和分泌的信号分子到细胞表面。膜结合的信号分子是跨膜蛋白 CD40 配基，这一配基我们在前面提到过，它在辅助效应 T 细胞表面表达，但不在未激活的童贞辅助 T 细胞或记忆辅助 T 细胞表面表达。它被 B 细胞表面的 CD40 分子识别。CD40 配基和 CD40 之间的相互作用是辅助 T 细胞激活 B 细胞增殖、分化成记忆细胞或分泌抗体的效应细胞所必需的。缺乏 CD40 配基的个体具有严重的免疫缺陷。它们对影响艾滋病患者（其辅助 T 细胞已遭受破坏）的相同感染敏感。

辅助 T 细胞分泌的信号也帮助 B 细胞增殖和分化，在某些情况下，帮助 B 细胞转换它们产生的抗体类别。白细胞介素 4（interleukin-4，IL-4）就是这样一种信号。它由 T_H2 细胞产生，与 CD40 配基合作，刺激 B 细胞的增殖和分化，它还促进 B 细胞转换为产生 IgE 抗体。有 IL-4 产生缺陷的小鼠严重损伤它们产生 IgE 的能力。

T 细胞和 B 细胞活化所需信号的比较见图 24-70，本章讨论的一些细胞因子列于表 24-4。

表 24-4　一些白细胞介素的特性

细胞因子	部分来源	部分靶细胞	部分作用
IL-2	所有辅助 T 细胞；一些细胞毒 T 细胞；活化的肥大细胞	所有活化的 T 细胞和 B 细胞	促进增殖和分化
IL-4	T_H2 细胞和肥大细胞	B 细胞和 T_H1 细胞	促进 B 细胞增殖、成熟和类别转换为 IgE 和 IgG1；抑制 T_H1 细胞的发育
IL-5	T_H2 细胞和肥大细胞	B 细胞、嗜酸性粒细胞	促进增殖和成熟
IL-10	T_H2 细胞、巨噬细胞和树突状细胞	巨噬细胞和 T_H1 细胞	抑制巨噬细胞和 T_H1 细胞的发育
IL-12	B 细胞、巨噬细胞和树突状细胞	童贞 T 细胞	诱导 T_H2 细胞的发育，抑制 T_H1 细胞的发育
IFN-γ	T_H1 细胞	B 细胞、巨噬细胞、内皮细胞	活化各种 MHC 基因和巨噬细胞；增加许多细胞类型中的 MHC 表达
TNF-α	T_H1 细胞和巨噬细胞	内皮细胞	活化

一些抗原能在没有 T 细胞的帮助下刺激 B 细胞增殖和分化成分泌抗体的效应细胞。这些 T 细胞非依赖性抗原（T-cell-independent antigen）中，大部分是不激活辅助 T 细胞的微生物多糖。一些抗原通过提供第一类信号和第二类信号直接刺激 B 细胞。其他一些抗原是大的多聚体，具有重复的、完全相同的抗原决定簇［图 24-29（B)］；它们与 B 细胞抗原受体的多点结合能产生足够强的第一类信号，在没有第二类信号的情况下直接激活 B 细胞。因为 T 细胞非依赖性抗原不激活辅助 T 细胞，所以它们不能诱导 B 细胞记忆、亲和力成熟或类转换，所有这些功能都需要 T 细胞的帮助。因此，它们主要刺激产生低亲和力的 IgM 抗体（但具有高亲合力)。没有 T 细胞的帮助能产生抗体的大多数 B 细胞属于一个明显不同的 B 细胞谱系。它们被称作 B1 细胞，以区别于需要 T 细胞帮助的 B2 细胞。B1 细胞在防御肠内病原体中似乎尤为重要。

免疫识别分子属于一个古老的超家族

大部分在免疫系统中介导细胞间识别或抗原识别的蛋白质都含有 Ig 或类 Ig 结构域，提

示它们有共同的进化史。包括在这一**Ig超家族**中的有抗体、T细胞受体、MHC蛋白、CD4、CD8和CD28共受体、大部分与B细胞受体和T细胞受体结合的不变多肽链、淋巴细胞和其他白细胞表面的各种Fc受体。所有这些蛋白质都含有一个或多个Ig或类Ig结构域。实际上，白细胞表面150个左右的特征性多肽中，约40%属于这一超家族。这些分子中许多都是二聚体或更高的寡聚体，其中一条链的Ig或类Ig结构域与另一条链的这些结构域相互作用(图24-71)。

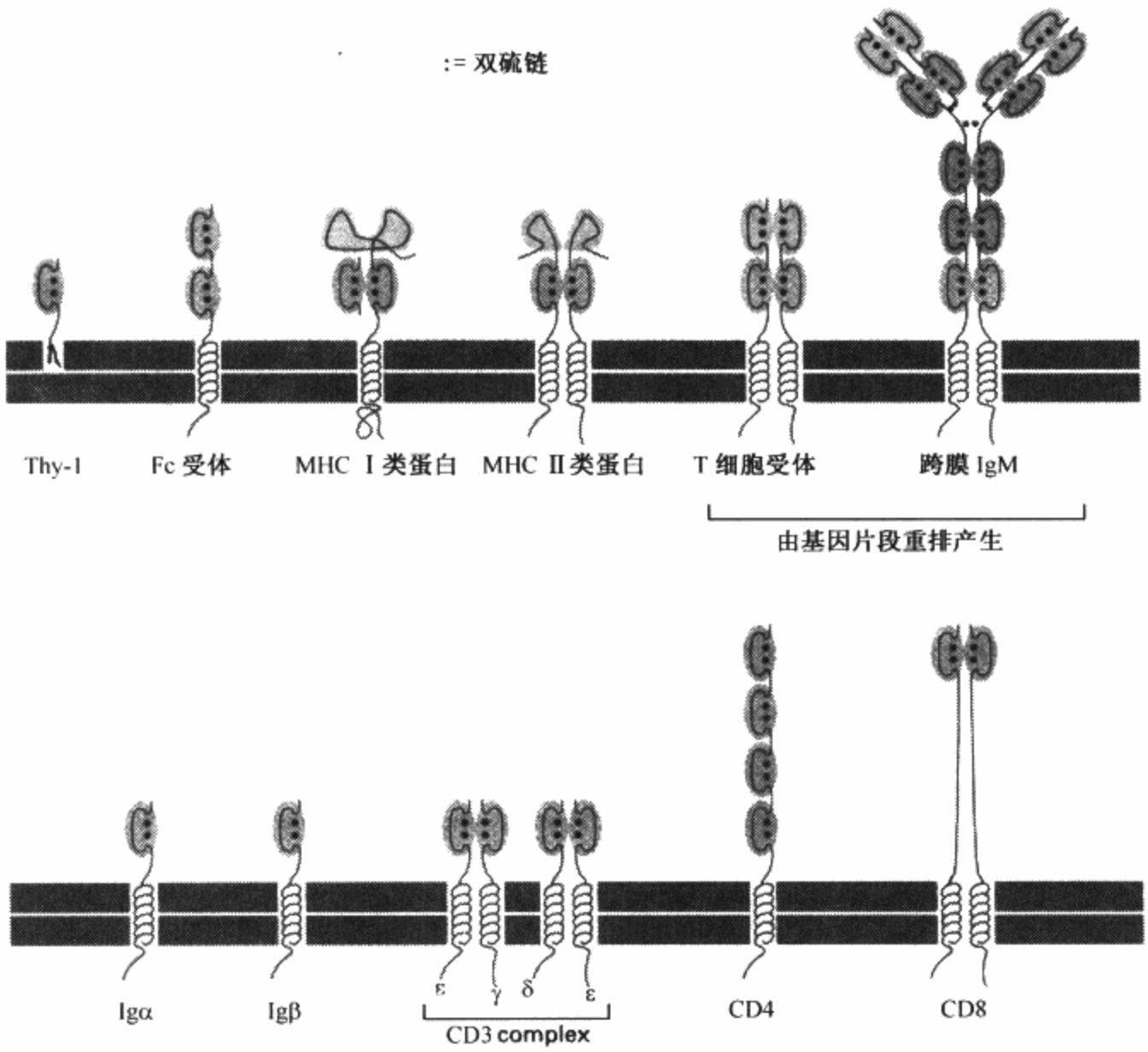


图24-71　属于Ig超家族的一些膜蛋白

Ig和类Ig结构域显示为灰色，除了抗原结合结构域显示为蓝色（并非所有的都是Ig结构域）。Thy-1的功能未知，但是它在小鼠中广泛应用于T细胞的鉴定。Ig超家族还包括许多与免疫系统无关的细胞间相互作用的细胞表面蛋白。例如，第19章讨论的神经细胞黏着分子（N-CAM）以及第15章和第17章讨论的各种蛋白质生长因子的受体（图中未显示）。人的Ig超家族约有765个成员

每个类Ig结构域中的氨基酸通常都由一个独立的外显子编码。似乎整个基因家族都是由一个编码单个类Ig结构域的基因进化而来，{类似于编码β_2-微球蛋白的基因［图24-50（A)］或编码Thy-1蛋白的基因（图24-71)} 它可能介导细胞间的相互作用。有证据显示，这样一种原始基因产生于大约4亿年前脊椎动物从它们的无脊椎动物祖先分离出来之前。家族新成员可能产生于外显子和基因重复。

在一个古老的类淋巴细胞中，当转座因子或转座子（讨论见第5章）插入编码Ig家族成员的基因的一个外显子时，就可能产生编码抗体和T细胞受体的多基因片段。转座子可能含有*rag*基因的祖先，*rag*基因在前面已经讨论过，它编码启动$V(D)J$连接的蛋白质；RAG

蛋白在试管中能充当转座子的研究结果强烈支持这种观点。

一旦转座子插入外显子，只要转座子被 RAG 蛋白切除且外显子两端被重新结合，该基因就能被表达，这和 Ig 轻链基因的 *V*、*J* 基因片段被装配时所发生的情况几乎一样（图 24-37）。此时，转座子再次插入到相同外显子可能将基因分成三个片段，相当于现存的 *V*、*D* 和 *J* 基因片段。任何一个基因片段或整个断裂基因的后继重复都可能产生基因片段的重排——这是现存脊椎动物的获得性免疫系统的特征。

获得性免疫系统的进化使脊椎动物防御病原体的感染。然而，病原体进化更迅速，它们获得了非常高级的策略来对抗这些防御，关于这一点，我们将在第 25 章中讨论。

小结

童贞 T 细胞的激活至少需要两类信号。这两类信号都由抗原呈递细胞（通常是树突状细胞）提供：第一类信号由与 T 细胞受体结合的 MHC-肽复合体提供，而第二类信号则主要由与 T 细胞表面的 CD28 结合的 B7 共刺激蛋白提供。如果 T 细胞仅接收到第一类信号，那么它通常会被剔除或失活。当辅助 T 细胞最初在树突状细胞表面被激活时，它们或者分化成 T_H1 效应细胞或者分化成 T_H2 效应细胞，这依赖于它们周围环境中的细胞因子：T_H1 细胞激活巨噬细胞、细胞毒 T 细胞和 B 细胞，而 T_H2 细胞则主要激活 B 细胞。在这两种情况下，辅助效应 T 细胞识别靶细胞表面的外来肽和 MHC Ⅱ类蛋白组成的复合体，该复合体与它们最初识别并激活它们的树突状细胞表面的复合体相同。它们通过膜结合的和分泌的信号蛋白激活它们的靶细胞。膜结合信号蛋白是 CD40 配基。与 T 细胞类似，B 细胞的激活需要同时存在两个信号。与 B 细胞抗原受体结合的抗原提供第一类信号，而辅助效应 T 细胞提供第二类信号，其存在形式是 CD40 配基和各种细胞因子。

大多数在免疫系统中涉及细胞间识别和抗原识别的蛋白质（包括抗体、T 细胞受体、MHC 蛋白以及在本章中讨论的各种不同共受体）都属于古老的 Ig 超家族。一般认为，这个超家族是从一个编码单个类 Ig 结构域的原始基因进化而来的。

参考文献

一般文献

Abbas AK, Lichtman AH & Pober JS (1997) Cellular and Molecular Immunology. 3rd edn. Philadelphia: WB Saunders.

Janeway CA, Jr, Travers P, Walport M & Shlomchik M (2001) Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 5th edn. London: Garland.

Parham P (2001) The Immune System. New York/London: Garland Publishing/Elsevier Science Ltd.

Paul WE (1999) Fundamental Immunology. Philadelphia: Lippincott-Raven.

Lymphocytes and the Cellular Basis of Adaptive Immunity

Billingham RE, Brent L & Medewar PB (1956) Quantitative studies on tissue transplantation immunity. III. Actively acquired tolerance. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 239, 357–414.

Butcher EC & Picker LJ (1996) Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 272, 60–66.

Cyster JG (1999) Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* 286, 2098–2102.

Fearon DT & Locksley RM (1996) The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* 272, 50–53.

Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Jr & Ezekowitz RAB (1999) Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 284, 1313–1318.

Ikuta K, Uchida N, Friedman J & Weissman IL (1992) Lymphocyte development from stem cells. *Annu. Rev. Immunol.* 10, 759–784.

Janeway CA, Jr, Goodnow CC & Medzhitov R (1996) Danger—pathogen on the premises. *Curr. Biol.* 6, 519–522.

Sprent J (1997) Immunological memory. *Curr. Opin. Immunol.* 9, 371–379.

Zinkernagel RM, Bachmann MF, Kundig TM et al. (1996) On immunological memory. *Annu. Rev. Immunol.* 14, 333–367.

B Cells and Antibodies

Braden BC & Poljak RJ (1995) Structural features of the reactions between antibodies and protein antigens. *FASEB J.* 9, 9–16.

Burton DR & Woof JM (1992) Human antibody effector function. *Adv. Immunol.* 51, 1–84.

Davies DR, Sherrif S & Padlan EA (1988) Antigen–antibody complexes. *J. Biol. Chem.* 263, 10541–10544.

DeFranco AL (1993) Structure and function of the B cell antigen receptor. *Annu. Rev. Cell Biol.* 9, 377–410.

Padlan EA (1994) Anatomy of the antibody molecule. *Mol. Immunol.* 31, 169–217.

Reth M (1994) B cell antigen receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 6, 3–8.

Sakano H, Rogers JH, Huppi K et al. (1979) Domains and the hinge region of an immunoglobulin heavy chain are encoded in separate DNA segments. *Nature* 277, 627–633.

Wilson IA & Stanfield RL (1994) Antibody–antigen interactions: new structures and new conformational changes. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 4, 857–867.

The Generation of Antibody Diversity

Bergman Y (1999) Allelic exclusion in B and T lymphopoiesis. *Semin. Immunol.* 11, 319–328.

Chen J & Alt FW (1993) Gene rearrangement and B-cell development. *Curr. Opin. Immunol.* 5, 194–200.

Fugmann SD, Lee AI, Shockett PE et al. (2000) The RAG proteins and V(D)J recombination: complexes, ends, and transposition. *Annu. Rev. Immunol.* 18, 495–527.

Green NS, Lin MM & Scharff MD (1998) Somatic hypermutation of antibody genes: a hot spot warms up. *Bioessays* 20, 227–234.

Kinoshita K & Honjo T (2001) Linking class-switch recombination with somatic hypermutation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 493–503.

Rajewsky K (1996) Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* 381, 751–758.

Stavnezer J (1996) Antibody class switching. *Adv. Immunol.* 61, 79–146.

Tonegawa S (1983) Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 302, 575–581.

Willerford DM, Swat W & Alt FW (1996) Developmental regulation of V(D)J recombination and lymphocyte differentiation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 6, 603–609.

T Cells and MHC Proteins

Bentley GA & Mariuzza RA (1996) The structure of the T cell antigen receptor. *Annu. Rev. Immunol.* 14, 563–590.

Bjorkman PJ (1997) MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions. *Cell* 89, 167–170.

Cresswell P (1998) Proteases, processing, and thymic selection. *Science* 280, 394–395.

Dong C & Flavell RA (2001) Th1 and Th2 cells. *Curr. Opin. Hematol.* 8, 47–51.

Dustin ML & Cooper JA (2000) The immunological synapse and the actin cytoskeleton: molecular hardware for T cell signaling. *Nat. Immunol.* 1, 23–29.

Garcia KC, Teyton L & Wilson IA (1999) Structural basis of T cell recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 17, 369–397.

Goldrath AW & Bevan MJ (1999) Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire. *Nature* 402, 255–262.

Hennecke J & Wiley DC (2001) T cell receptor–MHC interactions up close. *Cell* 104, 1–4.

Lanzavecchia A & Sallusto F (2001) The instructive role of dendritic cells on T cell responses: lineages, plasticity and kinetics. *Curr. Opin. Immunol.* 13, 291–298.

McDevitt HO (2000) Discovering the role of the major histocompatibility complex in the immune response. *Annu. Rev. Immunol.* 18, 1–17.

Meyer D & Thomson G (2001) How selection shapes variation of the human major histocompatibility complex: a review. *Ann. Hum. Genet.* 65, 1–26.

Natarajan K, Li H, Mariuzza RA & Margulies DH (1999) MHC class I molecules, structure and function. *Rev. Immunogenet.* 1, 32–46.

Nossal GJ (1994) Negative selection of lymphocytes. *Cell* 76, 229–239.

Pieters J (2000) MHC class II-restricted antigen processing and presentation. *Adv. Immunol.* 75, 159–208.

Rock KL & Goldberg AL (1999) Degradation of cell proteins and the generation of MHC class I-presented peptides. *Annu. Rev. Immunol.* 17, 739–779.

The MHC sequencing consortium (1999) Complete sequence and gene map of human major histocompatibility complex. *Nature* 401, 921–923.

von Boehmer H (1994) Positive selection of lymphocytes. *Cell* 76, 219–228.

Watts C & Powis S (1999) Pathways of antigen processing and presentation. *Rev. Immunogenet.* 1, 60–74.

Wülfing C & Davis MM (1998) A receptor/cytoskeletal movement triggered by costimulation during T cell activation. *Science* 282, 2267–2269.

Zinkernagel RM & Doherty PC (1979) MHC-restricted cytotoxic T cells: studies of the biological role of polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restriction-specificity, function and responsiveness. *Adv. Immunol.* 27, 51–177.

Helper T Cells and Lymphocyte Activation

Buck CA (1992) Immunoglobulin superfamily: structure, function and relationship to other receptor molecules. *Semin. Cell Biol.* 3, 179–188.

Carroll MC (2000) The role of complement in B cell activation and tolerance. *Adv. Immunol.* 74, 61–88.

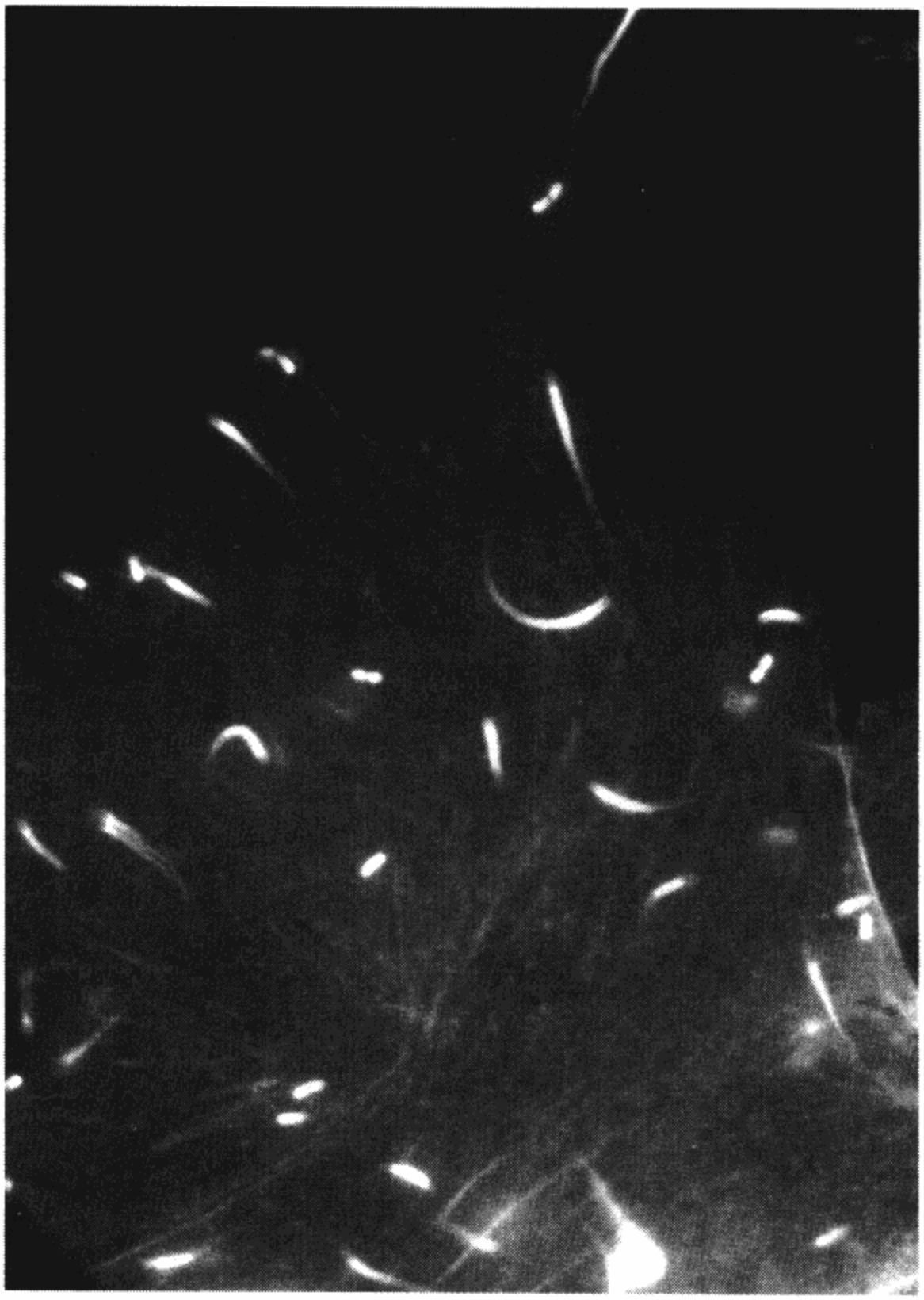
Croft M & Dubey C (1997) Accessory molecule and costimulation requirements for CD4 T cell response. *Crit. Rev. Immunol.* 17, 89–118.

DeFranco AL (1996) The two-headed antigen. *Curr. Biol.* 6, 548–550.

Lichtman AH & Abbas AK (1997) Recruiting the right kind of help. *Curr. Biol.* 7, R242–R244.

Weintraub BC & Goodnow CC (1998) Costimulatory receptors have their say. *Curr. Biol.* 8, R575–R577.

Williams AF, Davis SJ, He Q & Barclay AN (1989) Structural diversity in domains of the immunoglobulin superfamily. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 54, 637–647.



宿主-病原体相互作用

细菌病原体单核细胞增多性李斯忒氏菌（*Listeria monocytogenes*）直接在感染的哺乳动物宿主细胞的胞质中生长，包括图中所示的人细胞。这些细菌诱导宿主细胞肌动蛋白丝（绿色）的彗星状尾的装配，肌动蛋白丝驱使侵入者穿过宿主胞质，使感染能够从细胞直接扩散至它的周围细胞（经 Julie Theriot 许可）

25　病原体、感染和先天性免疫

病原体导论
感染的细胞生物学
天然免疫

目前，传染病和寄生虫病引起的死亡约占全世界死亡人口总数的 1/3，超过各种形式的癌症引起的死亡总和。除了古老的疾病如结核病和疟疾引起的持续沉重负担之外，新传染病正在不断出现，包括目前在全世界流行的艾滋病（获得性免疫缺陷综合征），该病已在全世界引起二千多万人死亡。而且，长期以来被认为是由其他原因引起的一些疾病现在认为与感染有关。例如，大部分胃溃疡并不是一度认为的由紧张和辛辣食物引起，而是由幽门螺旋杆菌引起的胃部细菌感染所致。

传染病和寄生虫病的重负并不是均等地散布于全世界各地。比较贫穷的国家和地区不合比例地承受这些负担。通常，传染病发生率和薄弱的公共卫生设施与公共卫生体系有关，后者常常由于政治上的大变动而进一步妥协。然而，一些传染病主要或者只在工业化地区发生：军团病就是最近发生的一个例子。

人类长期受到传染病的困扰。最早关于怎样限制狂犬病传播的书面描述可追溯到三千多年前。自从 19 世纪中期以来，医师和科学家们努力鉴别引起传染病的因素，统称为**病原体（pathogen）**。更近一些，微生物遗传学和分子细胞生物学的出现大大增加了我们对传染病的病因和机制的理解。现在我们知道，病原体经常利用其宿主细胞的生物学特性感染它们。这种理解能使我们对正常情况下的细胞生物学以及治疗和预防传染病的策略有新的深入了解。

在一个充满敌对的、机敏的、快速进化的病原体的世界上，脆弱的、缓慢进化的人类怎样生存？像其他所有的多细胞有机体一样，我们形成了抵抗由病原体引起的传染病的机制。这些防御分为两类：**天然免疫应答（innate immune response）**，感染开始后立即发挥作用，而且不依赖于宿主以前是否暴露于病原体；**获得性免疫应答（adaptive immune response）**这是更强的防御，在感染后期起作用，并且对诱导其产生的病原体高度特异。

在本章中，我们首先概述引起疾病的各种不同有机体。接着讨论感染的细胞生物学，最后讨论天然免疫。获得性免疫是第 24 章的主题。

病原体导论

通常，我们敌意地将病原体视为攻击我们身体的侵入者。但是，和其他的有机体一样，病原体或寄生虫只是在设法生存和繁殖。以宿主有机体为代价的生存是一个非常有吸引力的策略，可能世界上的每个生物有机体都易于受到某种类型的感染或寄生（图 25-1）。人宿主是一个富于营养、温暖、湿润的环境，该环境温度保持恒定并不断地自我更新。不足为奇的是，许多微生物进化出在这种理想的小生境生存和繁殖的能力。在本节中，我们讨论微生物为具有传染性而必须具备共同特性。然后，我们探索已知在人体中引起疾病的各种有机体。

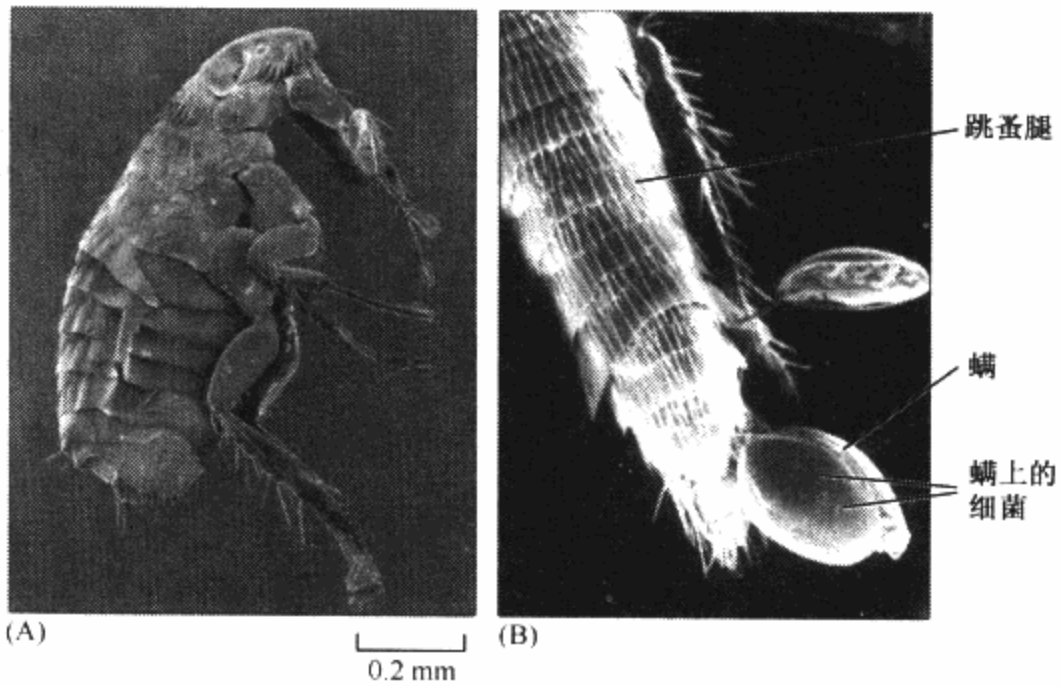


图 25-1　多水平寄生现象

（A）蚤的扫描电子显微照片。蚤是哺乳动物（包括狗、猫、大鼠和人）的一种常见寄生虫。它吮吸宿主的血液。蚤的叮咬将致病菌鼠疫耶尔森氏菌从一个感染宿主的血流传至另一个宿主的血流，从而传播腺鼠疫。（B）蚤腿的特写镜头显示，这只蚤也有一个寄生虫——一种螨。螨上又覆盖有细菌。很可能这些细菌内寄生有噬菌体——细菌的病毒。一个类似的观察已被 Jonathan Swift 于 1733 年报道。因此，博物学家观察到，一只蚤上有更小的蚤在其身上捕食；而这些蚤上又有一些小得多的蚤叮咬它们；如此无穷进行下去［（A）经 Tina Carvalho/MicroAngela 许可；（B）经 Stanley Falkow 许可］

病原体进化出与其宿主相互作用的特殊机制

人体是一个复杂而又生机勃勃的生态系统。它大约含有 10^{13} 个人的细胞，约 10^{14} 个细菌细胞、真菌细胞和原生动物细胞，代表数千个微生物物种。这些微生物被称为**正常菌群（normal flora）**，通常局限于身体的特定区域，包括皮肤、口腔、大肠和阴道。另外，人体总是被病毒感染，其中大部分很少有症状（如果有过的话）。如果对我们来说与许多种微生物如此密切的生活在一起是正常的，那么为何其中一些能使我们生病或死亡呢？

通常，病原体与正常菌群是明显不同的。我们的正常微生物居住者只有当我们的免疫系统被减弱或者它们进入身体在正常情况下无菌的部分时（例如，肠穿孔使肠道菌落进入腹部的腹膜腔，引起腹膜炎），才引起麻烦。相反，真正的病原体不要求的宿主免疫妥协或受伤。它们发展出跨越细胞和生物化学障碍的高度特化机制，并诱导宿主有机体产生有助于病原体生存和繁殖的特殊应答。

为了在宿主中生存和繁殖，一个成功的病原体必须能够：①寄居于宿主；②在宿主体内找到营养丰富的合适小生境；③避免、颠覆或绕过宿主的天然免疫应答和获得性免疫应答；④利用宿主资源进行复制；⑤退出并扩散至新的宿主。在仅诱导恰当的宿主细胞应答完成这一套复杂任务的苛刻选择压力下，病原体进化出最大限度地利用宿主有机体的生物学的机制。我们在本章中讨论的许多病原体都是熟练而且现实的细胞生物学家。通过观察它们，我们能学到许多细胞生物学知识。

感染的体征和症状可能由病原体或宿主的应答而引起

尽管我们能很容易地理解为何传染性微生物要在宿主中进化以便繁殖，但是却不太清楚它们为何要进化而引起疾病。一个解释可以是，在某些情况下，微生物诱导的病理学反应提高了它们扩散或繁殖的效率，因而对病原体显然具有选择优势。例如，由单纯疱疹（herpes simplex）感染引起的含有病毒的外生殖器损伤便于病毒在性接触期间从感染宿主直接扩散至未感染配偶体。与此相似，腹泻感染可以有效地从患者传给护理人员。然而，在许多情况下，诱导疾病对病原体并没有明显的优势。

与传染病有关的许多症状和体征是宿主的免疫应答起作用的直接表现。病毒感染的一些标志，包括感染部位的肿胀和发红及脓（主要是死亡的白细胞）的产生，都是免疫系统细胞企图消灭侵入微生物的直接结果。发热也是一种防御反应，因为体温的增加能抑制一些微生物的生长。因此，理解传染病的生物学需要鉴别病原体和宿主的作用。

病原体在种系发生上具有多样性

许多类型的病原体都在人体中引起疾病。最熟悉的是病毒和细菌。病毒引起的疾病从艾滋病和天花到普通感冒。它们实质上是核酸（DNA 或 RNA）指令片段，由蛋白质保护性外

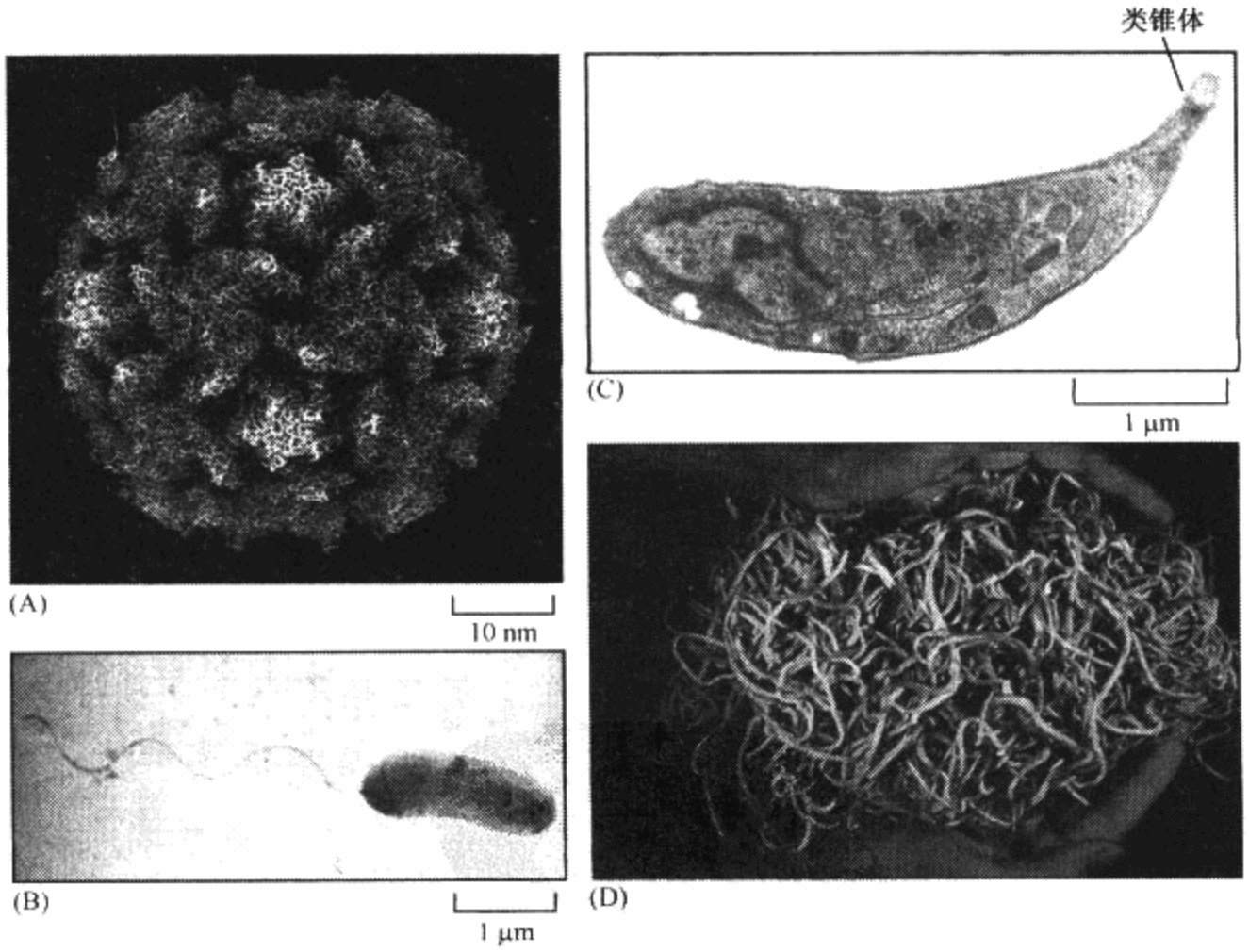


图 25-2　多种形式的病原体

（A）脊髓灰质炎病毒的蛋白质外壳或衣壳的结构。该病毒曾经是麻痹的常见原因，但是这种疾病（小儿麻痹症）由于广泛的免疫接种而几乎被根除。（B）霍乱弧菌，传染性的腹泻性痢疾（霍乱）的致病因子。（C）原生动物寄生虫鼠弓形体。这种生物通常是猫的寄生虫，但是它能在患有艾滋病的免疫妥协患者的肌肉和脑中引起严重感染。（D）这团蛔虫从一个两岁男孩的梗塞肠道中去除［（A）经 Robert Grant，Stephan Crainic 和 James M. Hogle 许可；（B）已尽全力联系版权所有者，我们很高兴收到他们的来信；（C）经 John Boothroyd 和 David Ferguson 许可；（D）摘自 J. K. Baird et al.，*Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 35：314～318，1986. Photograph by Daniel H. Connor］

壳和（在某些情况下）膜包裹［图 25-2（A）］。它们利用其宿主细胞的基本转录和翻译装置进行复制。

在我们一生中遇到的所有细菌中，仅有一小部分是专门的病原菌。细菌比病毒要大得多和复杂得多，它们通常是自由生活的细胞，主要是因为营养才依赖宿主［图 25-2（B）］。

其他一些传染性病原体是真核生物。从单细胞的真菌和原生动物［图 25-2（C）］到大而复杂的多细胞动物如寄生性蠕虫。在这个星球上最常见的传染病之一是肠道感染蛔虫（*Ascaris lumbricoides*），目前约有 10 亿人感染。这种线虫与其表亲秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*）非常相似，后者作为遗传学和发育生物学的一种模式生物被广泛使用（讨论见第 21 章）。然而，秀丽隐杆线虫仅长约 1mm，而蛔虫则能达到 30cm［图 25-2（D）］。

一些罕见的神经变性疾病，包括疯牛病，是由一种称为朊病毒（prion）的异常传染性粒子引起的，它仅由蛋白质组成。尽管朊病毒不含基因组，但是它仍然能够复制和破坏宿主。

甚至在每类病毒之内，仍然有惊人的多样性。病毒的大小、形状和内容物（是 DNA 还是 RNA，是否有囊膜等）差异极大，其他的病原体也是如此。引起疾病的能力（发病机制）是一种生活方式的选择，而不是一种仅在近亲之间分享的遗产（图 25-3）。

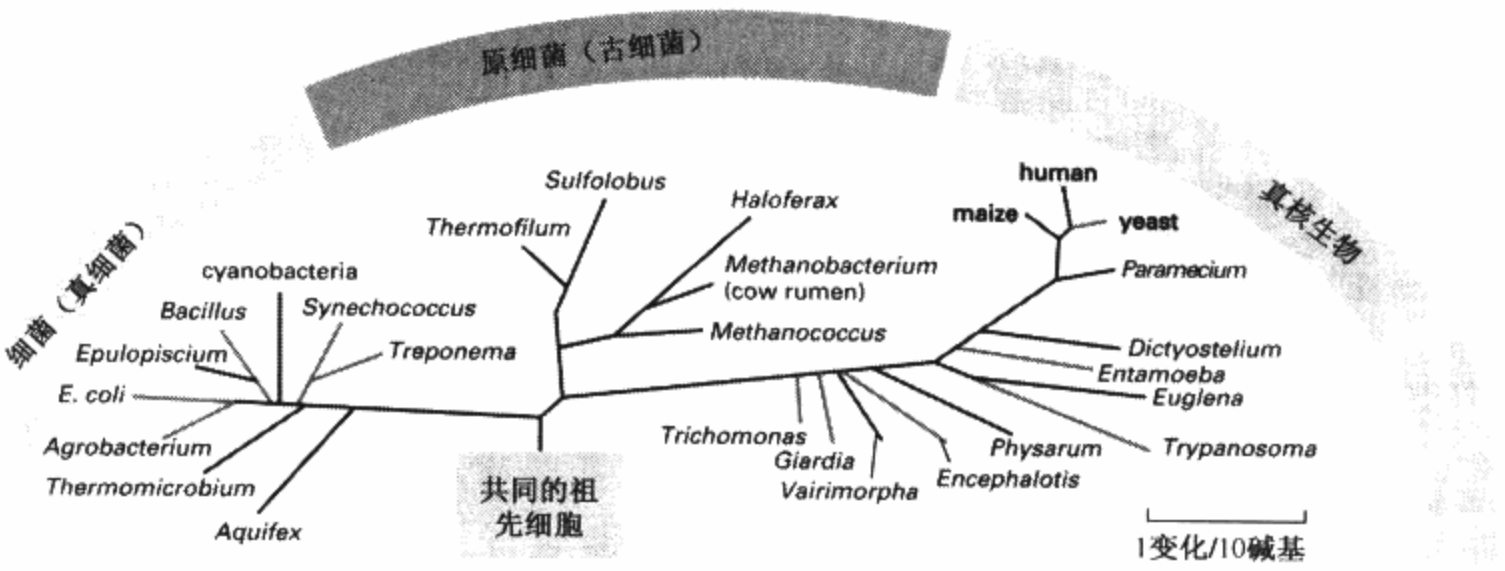


图 25-3　病原体种系发生的多样性

这幅图显示细胞生活型（细菌、古细菌和真核生物）的 16S 核糖体 RNA 之间的相似性每个分支都标上了该群的一个代表性成员的名称，分支的长度对应 rRNA 序列中的差异程度。注意，我们能用肉眼看到的所有生物（突出显示为黄色）（动物、植物和真菌）代表生物多样性的一个小亚群。在代表细菌和真核生物的这棵树的两个分支中，包括已知病原体的分支显示为红色。目前还不知道由古细菌引起的疾病，尽管许多人和所有的牛在它们的正常肠道菌落中存在某些类型的古细菌

每个独特的传染性病原体都以不同的方式引发疾病，这使得了解感染的基础生物学具有挑战性。但是，当考虑传染源和它们的宿主之间的相互作用时，就冒出了有关发病机制的一些共同主题。这些共同主题是本章的焦点。首先，我们介绍利用宿主的细胞生物学特性的每种主要病原体类型的基本特性。然后，我们依次考察病原体用于控制其宿主的机制和宿主用于控制病原体的固有机制。

细菌病原体携带专门的致病基因

与大多数真核细胞相比，细菌小，而且结构简单。大多数细菌根据其形状可广泛地分为杆状、球状或螺旋状，也可根据它们的细胞表面特性分类。尽管它们缺乏真核细胞所具有的复杂的形态多样性，但是它们展示出一组令人惊讶的表面附属物，使它们能游动或黏附到合

适的表面（图 25-4）。它们的基因组相对简单，通常其大小为1 000 000～5 000 000个核苷酸对（酵母为12 000 000，人的大于3 000 000 000）。

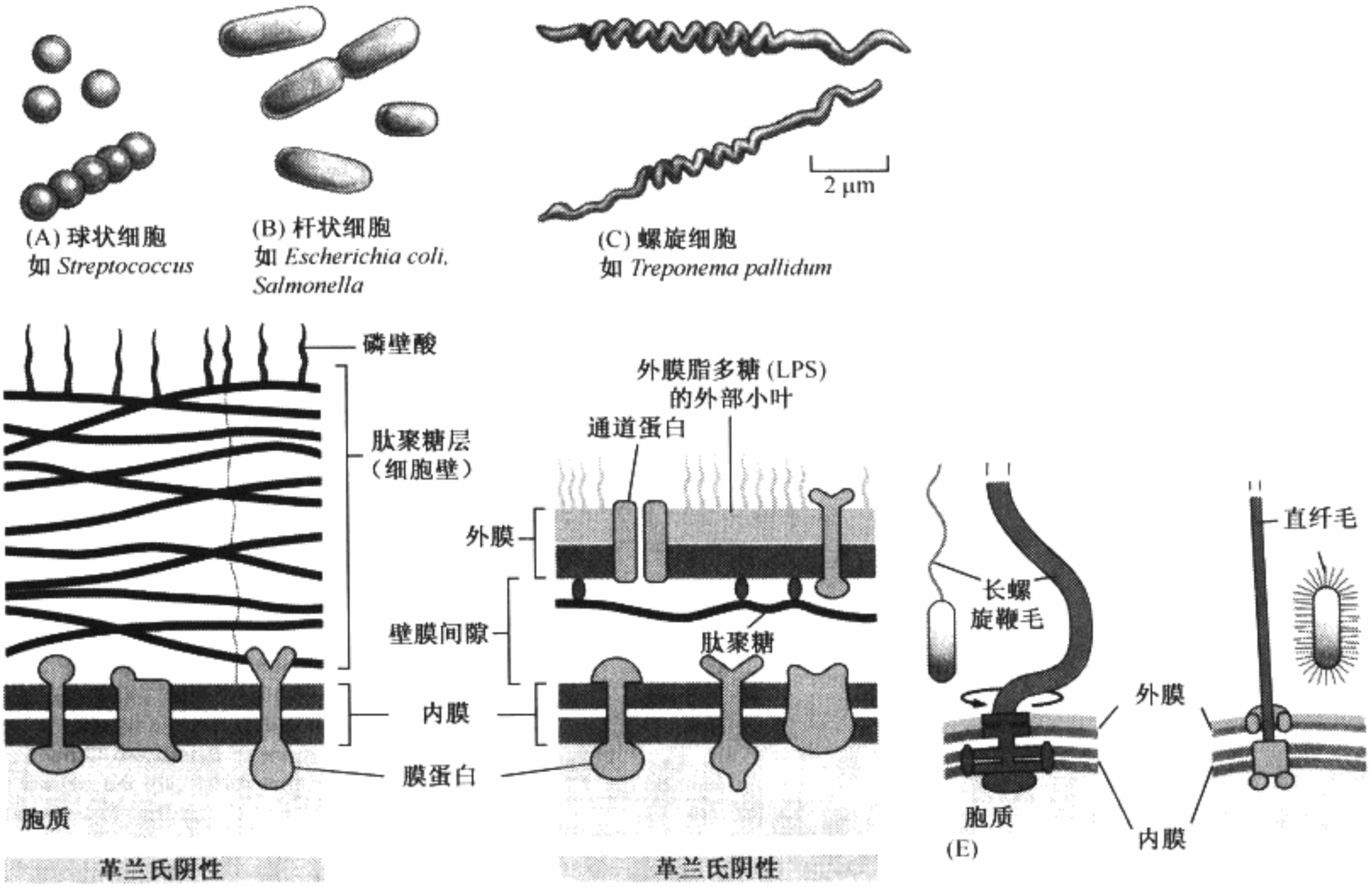


图 25-4　细菌的形状和细胞表面结构

细菌有三种不同的形状：（A）球状（球菌），（B）杆状（杆菌）和（C）螺旋状（螺旋菌）。（D）它们还可分类为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。细菌（如链球菌和葡萄球菌）有单层膜和一层由交联肽聚糖组成的厚细胞壁。它们滞留革兰氏染色程序中使用的紫色染料，因此被称为革兰氏阳性菌。革兰氏阴性菌，（如大肠杆菌和沙门氏菌）有两层膜，被周质空间隔开（图 11-17）。这些生物的细胞壁中的肽聚糖层位于周质空间，但比革兰氏阳性菌中的薄；因此，它们不能滞留革兰氏染色程序中使用的染料。革兰氏阴性菌的内膜是一个磷脂双分子层，外膜的内页也主要由磷脂组成；然而，外膜的外页则由一种称为脂多糖（LPS，图 25-40）的独特糖基化脂质组成。（E）细胞表面突出物对细菌的行为是重要的。许多细菌利用螺旋状鞭毛（图 15-68）的旋转而泳动。图示的细菌在一极只有一根鞭毛；其他细菌，如大肠杆菌，全身有多根鞭毛。直纤毛（也称为菌毛）被用于附着在宿主的表面，以利于细菌之间的遗传交换。鞭毛和纤毛通过大的多蛋白质复合体锚定在细胞表面

正如上面所强调的，仅有一小部分细菌种形成了引起人生病的能力。其中一些确实会引起疾病的种只能在人体细胞内复制，称为**绝对病原体（obligate pathogen）**。其他的则在环境储库如水或土壤中复制，并且只有在它们碰巧遇到一个易感宿主时，才能引起疾病；这些细菌称为**条件病原体（facultative pathogen）**。许多细菌在正常情况下是良性的，但是在受伤或免疫妥协宿主中，则有引起疾病的潜能，这些细菌称为**机会病原体（opportunistic pathogen）**。

一些细菌病原体选择其宿主是苛刻的，它们只感染单一种或一组相关种，而其他细菌病原体则是“通才”。例如，在世界上缺乏干净水供应的地区引起流行性痢疾（血性腹泻）的弗氏志贺氏菌（*Shigella flexneri*）只感染人和其他灵长类。相反，与之紧密关联的细菌肠道沙门氏菌（*Salmonella enterica*）是人食物中毒的常见原因，也能感染其他许多脊椎动物，包

括鸡和海龟。第一流的“通才”是机会病原体绿脓假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa*），它既能在植物又能在动物引起疾病。

恶性致病菌和与其亲缘关系最近的非致病菌之间的显著差异可能来自极少数的几个基因。赋予有机体引起疾病的能力的基因称为**致病基因（virulence gene）**。它们编码的蛋白质称为**致病因子（virulence factor）**。致病基因常常在细菌染色体上成组聚集在一起，称为致病岛（pathogenicity island），或者位于染色体外的毒性质粒（virulence plasmid）上（图 25-5）。这些基因也存在于可动的噬菌体（bacteriophage）上。因此，当几组致病基因被一起转移进先

图 25-5　病原体和非病原体之间的遗传差异

非致病性大肠杆菌有一个单一的环状染色体。大肠杆菌与两类食物传播病原体［弗氏志贺氏菌（引起痢疾）和肠道沙门氏菌（食物中毒的常见原因）］的亲缘关系极近。如果这三种生物今天在分子技术的基础上予以命名，如果不归为相同种，它们将归类为相同的属。弗氏志贺氏菌的染色体仅在几个位点不同于大肠杆菌的染色体；致病所需要的大多数基因都位于染色体外的毒性质粒上。肠道沙门氏菌的染色体携带两个在大肠杆菌染色体中未发现的大插入片段（致病岛）；这些插入片段每个都含有许多致病基因

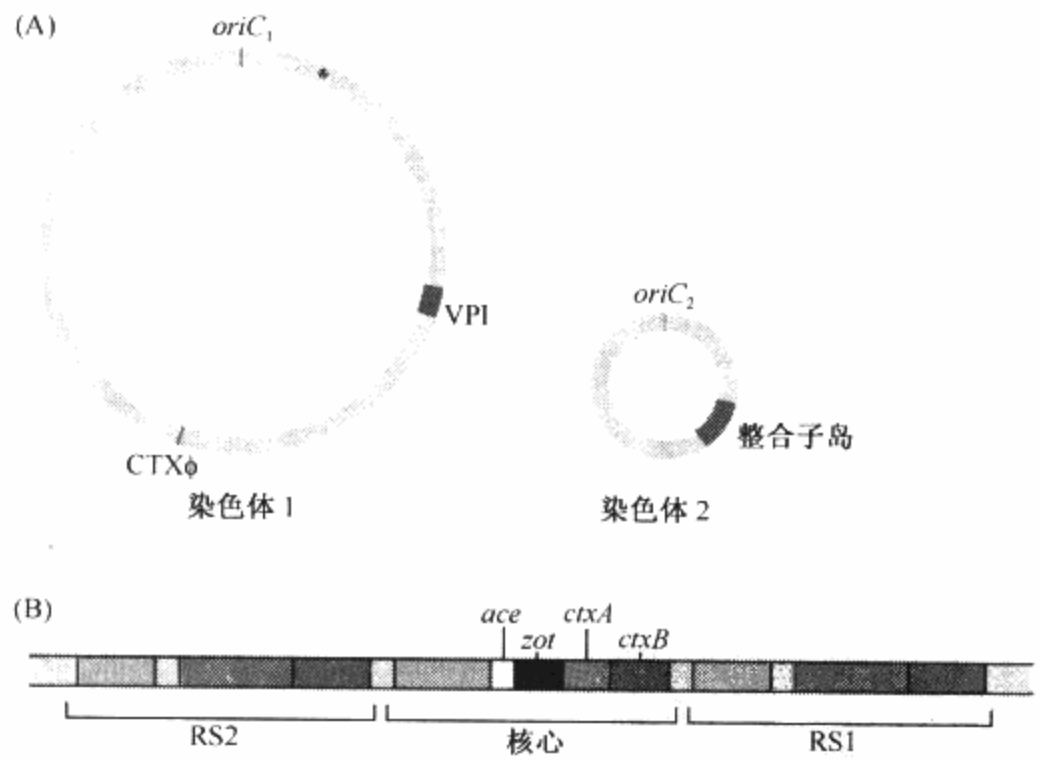


图 25-6　霍乱弧菌的遗传组构

（A）霍乱弧菌有两个而不是一个环状染色体，这是罕见的。这两个染色体的复制起点不同（$oriC_1$ 和 $oriC_2$）。霍乱弧菌致病株中的三个基因座在非致病株中不存在，似乎是相对最近才获得的。1 号染色体上的 CTXφ 是一段整合的噬菌体基因组，携带霍乱毒素的基因。1 号染色体上的致病岛 VPI 包括编码肠内定居所需因子的基因。2 号染色体上的整合子岛是一个能连续获得新基因的结构，它通过促进在一个强转录启动子下游插入新得到的 DNA 片段而获得新基因。尽管这个整合子岛至今还没有显示出它是霍乱弧菌的毒性所必需的，但是在其他许多病原体中的类似整合子岛都含有致病基因，以及与抗生素抗性有关的基因。（B）CTXφ 基因座图。编码霍乱毒素的两个亚基的基因是 *ctxA* 和 *ctxB*。核心区（core region）中的其他基因（*ace* 和 *zot*）也与毒性有关。两个重复侧翼序列 RS2 和 RS1 与噬菌体基因组的染色体插入有关

前无毒的细菌种时，似乎可能产生一个病原体。例如，可以思考一下霍乱弧菌（*Vibrio cholerae*）——引起霍乱的细菌。编码在霍乱中引起腹泻的毒素的几个基因位于一个可动的噬菌体上（图 25-6）。在野外湖泊中发现的数百株霍乱弧菌中，使人发病的唯一菌株就是那些感染了这种病毒的弧菌。

许多致病基因编码与宿主细胞直接相互作用的蛋白质。例如，霍乱弧菌噬菌体携带的其中基因编码**霍乱毒素（cholera toxin）**的两个亚基。人饮用了污水中的霍乱弧菌后，这种分泌型毒蛋白的 B 亚基就与人的肠道上皮细胞质膜的糖脂成分结合。B 亚基将 A 亚基跨膜传输进入上皮细胞的胞质。A 亚基是一种酶，催化 ADP-核糖基从 NAD 转移给三聚体 G 蛋白 G_s，该蛋白质在正常情况下激活腺苷酸环化酶产生环式 AMP（讨论见第 15 章）。G 蛋白的 ADP 核糖基化导致环式 AMP 的过量积累和离子失调，从而导致伴随霍乱的大量水泻。然后，感染通过粪口途径由污染的食物和饮水传播。

一些致病菌利用数种独立机制引起对其宿主细胞的毒性。例如，炭疽（anthrax）是一种急性传染病，发生于绵羊、牛和其他食草动物，偶尔发生于人。通常，这一疾病是通过接触革兰氏阳性菌炭疽芽孢杆菌（*Bacillus anthracis*）的孢子而引起。与霍乱不同，从来没有观察到炭疽从一个感染者直接传播给另一个人。休眠孢子可在土壤中长期生存，对不利环境条件具有很强的抵抗力，包括热、紫外线、电离辐射、压力和化学制剂。在孢子被吸入、摄入或搓揉进入皮肤裂口，孢子萌发，细菌开始复制。生长的细菌分泌两种毒素，称为**致死毒素（lethal toxin）**和**水肿毒素（edema toxin）**。任一种毒素都足以独自引起感染体征。与霍乱毒素的 A 亚基和 B 亚基类似，两种毒素都由两个亚基组成。致死毒素和水肿毒素的 B 亚基完全相同，它与宿主细胞的表面受体结合，将这两个不同的 A 亚基转移进入宿主细胞。水肿毒素的 A 亚基是一个腺苷酸环化酶，直接将宿主细胞的 ATP 转化成环式 AMP。这引起离子失

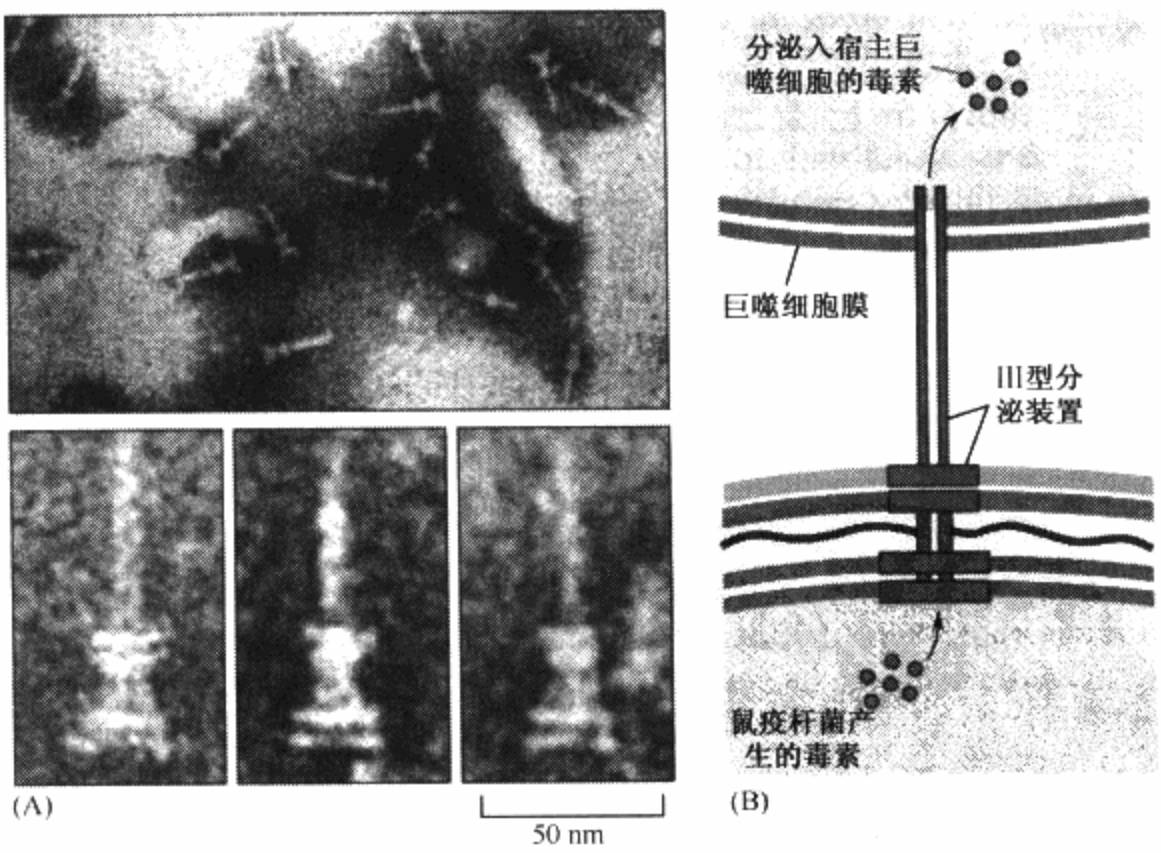


图 25-7　Ⅲ型分泌系统，能将致病因子传递进入宿主细胞的胞质

（A）纯化的Ⅲ型装置的电子显微照片。约有 24 个蛋白质是形成这一完整结构所必需的，可在下面三个放大显微图中见到。下层的大环埋在内膜中，上面较小的环埋在外膜中。顶端的长突出物是一段中空管，分泌蛋白可通过这段中空管传输。（B）在感染期间，管的顶端与宿主细胞质膜的接触触发分泌。在图中，鼠疫杆菌（鼠疫耶尔森氏菌）将毒素传递给巨噬细胞［（A）摘自 K. Tamano et al.，*EMBO J*. 19：3876～3887，2000，经牛津大学出版社许可］

调，导致感染皮肤或肺中细胞外液的积累（水肿）。致死毒素的 A 亚基是一个含锌蛋白酶，切割 MAP 激酶激酶家族的几个成员（讨论见第 15 章）。注射致死毒素进入动物的血流会引起休克和死亡。炭疽导致死亡的分子机制和事件顺序仍然未知。

这些例子说明致病因子中的一个共同主题。它们常常是毒蛋白（毒素），与重要的宿主结构蛋白或信号转导蛋白直接相互作用，从而诱导有利于病原体定居或复制的宿主细胞应答，或者它们是将这类毒素传递给宿主靶细胞所需要的蛋白质。一个常见而特别有效的传递机制，称为**第三类分泌系统（type Ⅲ secretion system）**，该系统像一个极小的注射器，将毒蛋白从胞外细菌的胞质直接注射进入邻近宿主细胞的胞质（图 25-7）。在第三类注射器和细菌鞭毛的基底之间在结构上有很大程度的相似性（图 15-67），这两种结构中的许多蛋白质显然是同源的。

因为细菌形成了一个明显不同与它们所感染的真核生物的界（图 25-3），所以它们的 DNA 复制、转录、翻译和基础代谢的许多基本装置与其宿主明显不同。这些差异使我们能发现特异抑制细菌中的这些过程而不破坏宿主中的这些过程的抗菌药物。我们用于治疗细菌感染的大多数**抗生素**都是抑制细菌中大分子合成的小分子，这是通过将明显不同于真核对应物的细菌酶或涉及人没有的途径如细胞壁合成的细菌酶作为靶目标而实现的（图 25-8 和表 6-3）。

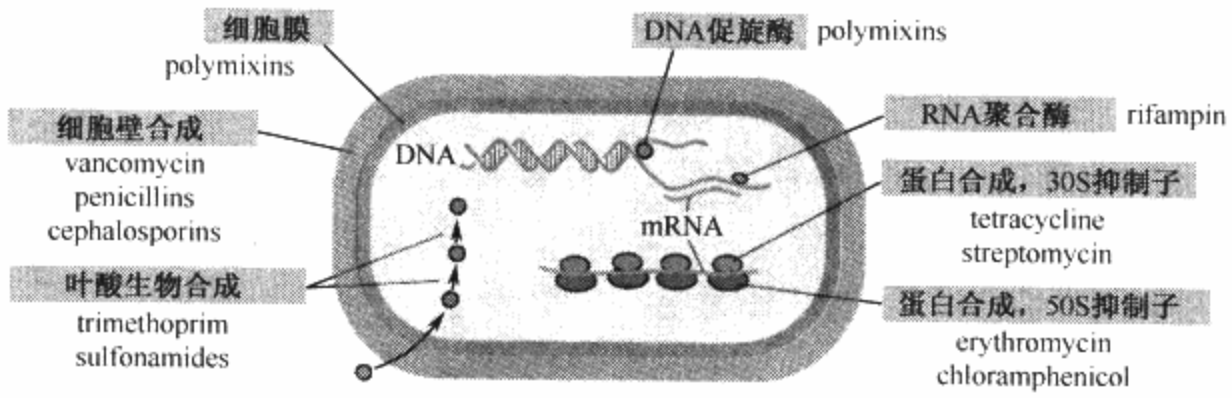


图 25-8　抗生素的靶

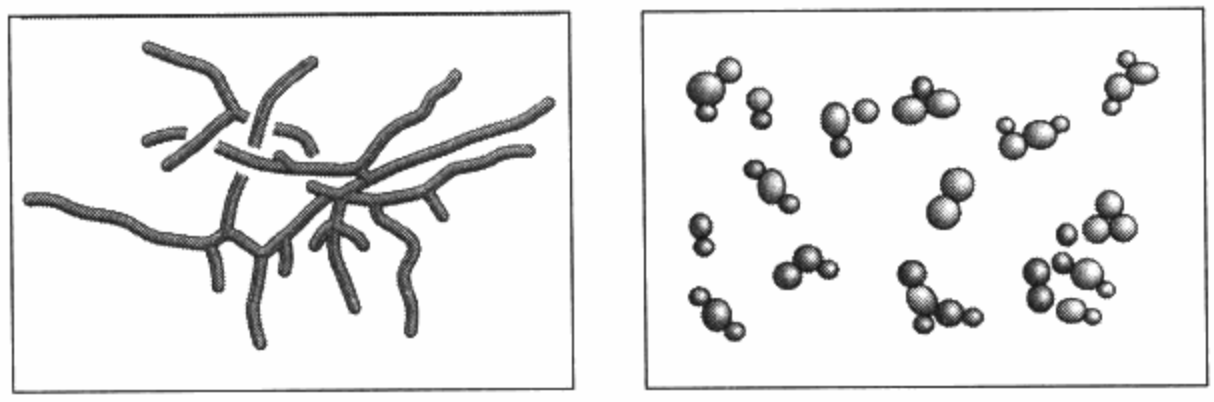
尽管可得到大量的抗生素，但是它们的靶范围却很窄，在图中突出显示为黄色。每类都列出了几种代表性的抗生素。用于治疗人感染的所有抗生素可归于这些类中的一种。绝大多数抑制细菌的蛋白质合成或细菌细胞壁合成

真菌和原生动物寄生虫有多种形式的复杂生活史

致病性真菌和原生动物寄生虫是真核生物。因此，要找到消灭它们而非宿主的药物就更加困难。结果，抗真菌和抗寄生虫药物常常比抗生素的效果更差、毒性更大。真菌和寄生虫感染的另一个特性是感染性有机体在其生活周期中的几种不同形式之间变换，使得它们难以治疗。能有效杀死一种病原体的药物常常对另一种无效，因而逃避治疗而生存下来。

真核生物界的**真菌**分支包括单细胞酵母（如酿酒酵母和裂殖酵母）和丝状多细胞霉菌（如长霉的水果和面包上发现的霉菌）。大部分重要的致病真菌表现出双态性（dimorphism），即以酵母或者霉菌形式生长的能力。酵母到霉菌或霉菌到酵母的转换常常与感染有关。例如，夹膜组织胞浆菌（*Histoplasma capsulatum*）在低温土壤中以霉菌形式生长，但是当它们被吸进肺部后，就转换成酵母形式，并能在此引起疾病——组织胞浆菌病（图 25-9）。

原生动物寄生虫（protozoan parasite）的生活史比真菌更为精细复杂。**疟疾**是最常见的原生动物疾病，每年感染 2 亿～3 亿人，其中死亡 1 百万～3 百万人。这种疾病是由 4 种疟原虫（*Plasmodium*）引起，它们通过雌按蚊的叮咬而传播给人，60 种按蚊中任何一种都可以



(A)　　(B)

图 25-9　致病真菌夹膜组织胞浆菌的二态性

（A）在低温土壤中，夹膜组织胞浆菌为丝状真菌。（B）被吸入哺乳动物的肺后，夹膜组织胞浆菌经历由于温度变化而触发的形态转换。在这种酵母样形态中，它很像酿酒酵母

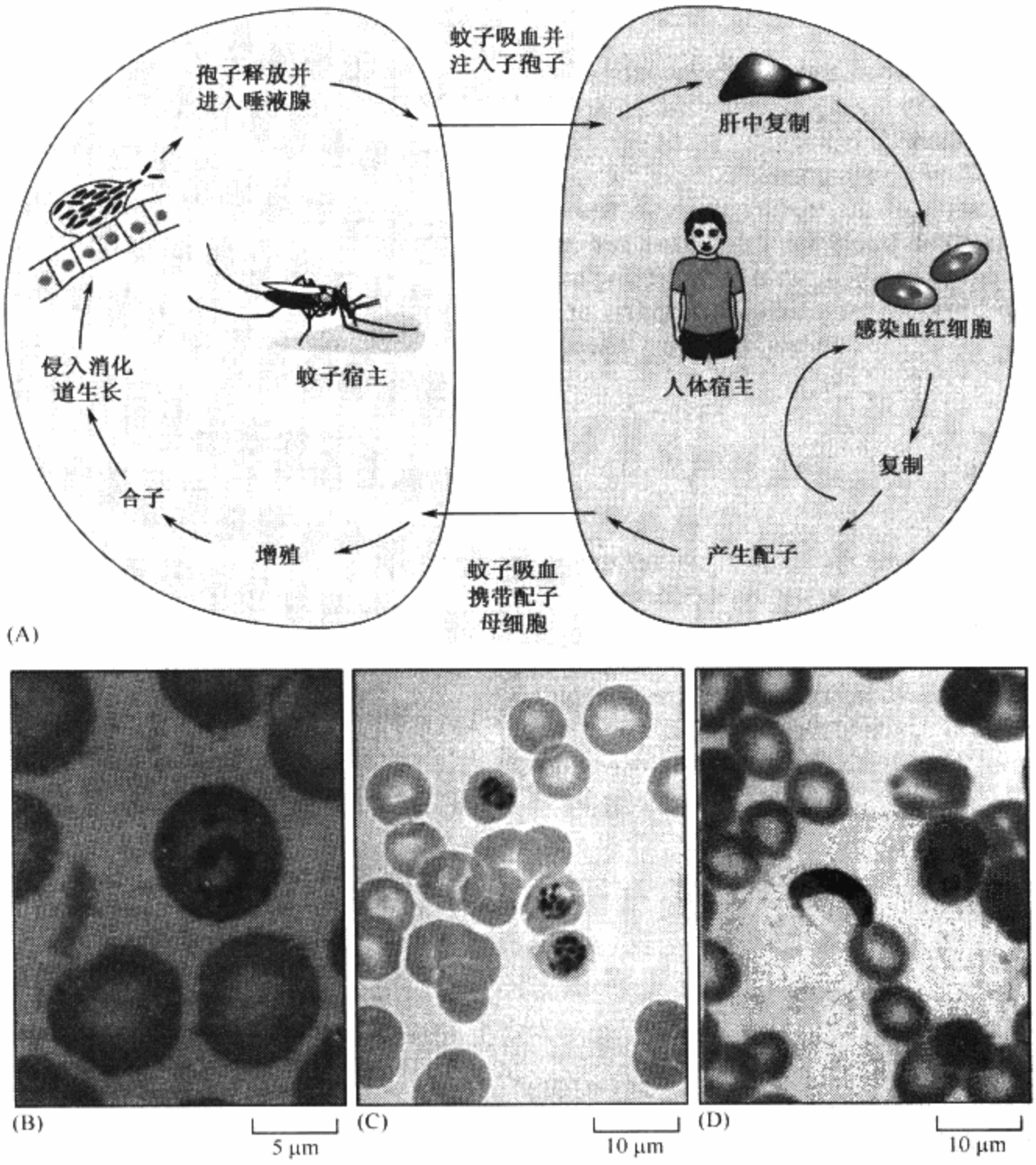


图 25-10　疟疾的复杂生活史

（A）恶性疟原虫的生殖周期需要经过人宿主和昆虫宿主。（B）～（D）疟疾患者的血涂片，显示出现在红细胞中的三种不同形式的寄生虫：（B）滋养体（环状体）；（C）裂殖体；（D）配子母细胞（显微照片，经 DPDx 寄生虫病处疾病控制中心许可）

传播。恶性疟原虫（*Plasmodium falciparum*）（研究最深入的致疟疾寄生虫）有多达 8 种明显不同的存在形式，它同时需要人和蚊子宿主才能完成其生殖周期（图 25-10）。配子在被感染者的血流中形成，但是它们只能在蚊子的肠道才能融合形成和子。有三种疟原虫形式高度特化地侵入特殊组织（昆虫肠道内表面、人的肝脏和人的红细胞）并在其中复制。

因为疟疾分布如此广泛且其破坏性如此之大，所以它对世界上藏匿有按蚊的地区的人群施加了一个强有力的选择压力。例如，镰状细胞贫血（sickle cell anemia）是一种隐性遗传性障碍，由编码血红蛋白 β 链的基因中的一个点突变引起，它常见于最严重形式的疟疾（由恶性疟原虫引起）高发的非洲地区。疟原虫在纯合子镰状细胞患者或健康的杂合子携带者的红细胞中生长不佳，结果疟疾很少在有这种点突变的携带者中发生。由于这一原因，疟疾使非洲这些地区维持高频率的镰状细胞突变。

病毒从其增殖的各个角度利用宿主细胞的机制

细菌、真菌和真核寄生物其本身都是细胞。即使它们是专性寄生物，它们还是使用其自身的装置进行 DNA 复制、转录和翻译，并提供其自身的代谢能量源。相反，**病毒**（virus）是彻底的寄生者，仅携带核酸形式的信息。这些信息主要由宿主细胞进行复制、包装和保存（图 25-11）。病毒有一个小基因组，由单一核苷酸类型组成（或者是 DNA 或者是 RNA），在任何一种情况下，可以是单链或是双链。基因组包裹在蛋白质外壳中，在某些病毒中，还被一层脂质进一步包裹。

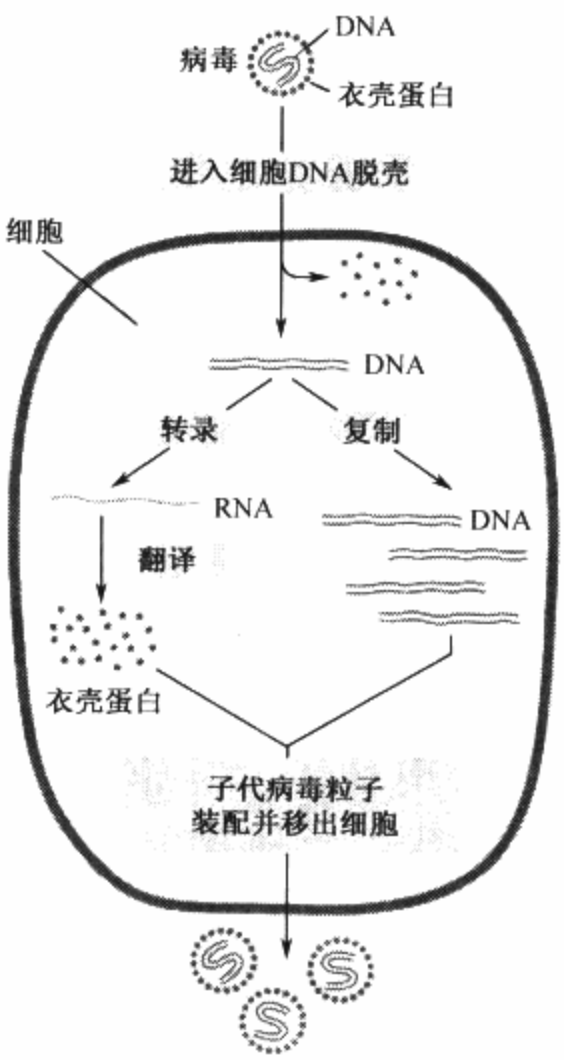


图 25-11　一个简单的病毒生活史

图中显示一个假设的病毒，含有一个小的双链 DNA 分子，仅编码一个病毒衣壳蛋白。没有一个病毒会如此简单

病毒通过各种不同的方式进行复制。一般而言，复制涉及①感染性病毒粒子的解体；②病毒基因组的复制；③由宿主细胞的翻译装置合成病毒蛋白；④这些组成成分重新组装成子代病毒颗粒。感染单一宿主细胞的单一病毒颗粒（病毒粒子）能在感染细胞内产生数千个细胞。这种异常的病毒增殖常常足以杀死宿主细胞：感染细胞破裂（细胞溶解），因此允许子代病毒接近附近的细胞。病毒感染的许多临床表现反映了病毒的这种细胞溶解效应（cytolytic effect）。例如，由单纯疱疹病毒形成的感冒疮和由天花病毒引起的损伤反映了在感染皮肤的局部区域杀死上皮细胞。

病毒形状和大小的变异很大，与细胞的生活型不同，它们不能按其亲缘关系进行系统的分类，形成单一系统树。因为它们极其微小，所以我们已经获得了几乎所有在临床上有重要意义的病毒的完整基因组序列。痘病毒（poxvirus）是其中最大的病毒，长达 450nm，这相当于一些小细菌的大小。它们的双链 DNA 基因组约由270 000个核苷酸对组成。大小处于另一个极端的是细小病毒（parvovirus），其长不到 20nm，有一个不到 5000 个核苷酸的单链 DNA 基因组（图 25-12）。病毒中的遗传信息可以多种异常核酸形式存在（图 25-13）。

包裹病毒基因组的**衣壳**由一种或几种蛋白质组成，有规律地排列成重复的层和式样。在

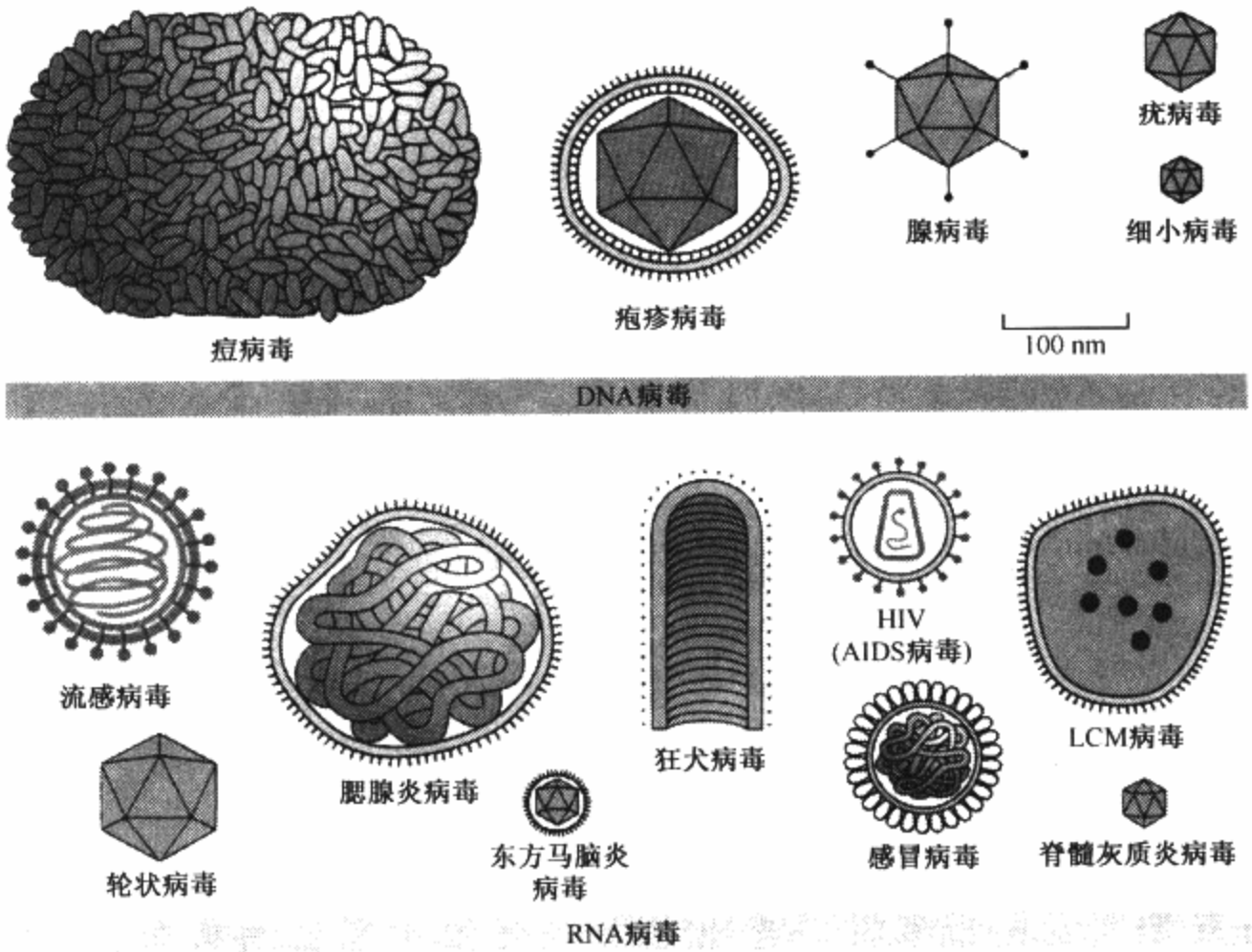


图 25-12　病毒形态学实例

如图中所示，病毒的大小和形状变化很大

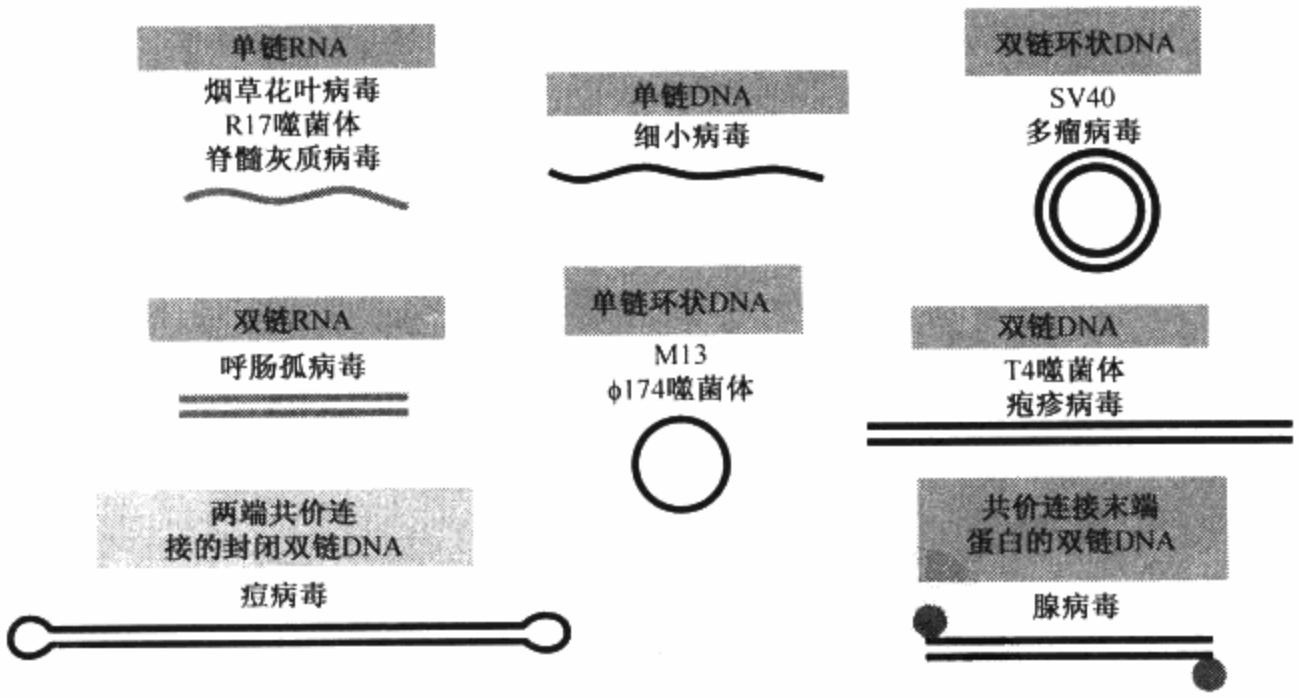


图 25-13　几种类型的病毒基因组草图

最小的病毒仅含有少数几个基因，可能有一个 RNA 或 DNA 基因组。最大的病毒含有数百个基因，有一个双链 DNA 基因组。特殊的末端（和环状一样）克服了复制 DNA 链末端最后几个核苷酸的困难（讨论见第 5 章）

有囊膜病毒（enveloped virus）中，衣壳本身被一层脂双层膜包裹，这层脂双层是在从宿主细胞质膜出芽过程中获得的（图 25-14）。无囊膜病毒通常通过裂解途径离开感染细胞，而有囊膜病毒则通过出芽离开细胞，不破坏质膜，因而不杀死细胞。这些病毒可引起慢性感染，

一些病毒还能帮助将感染细胞转化成癌细胞。

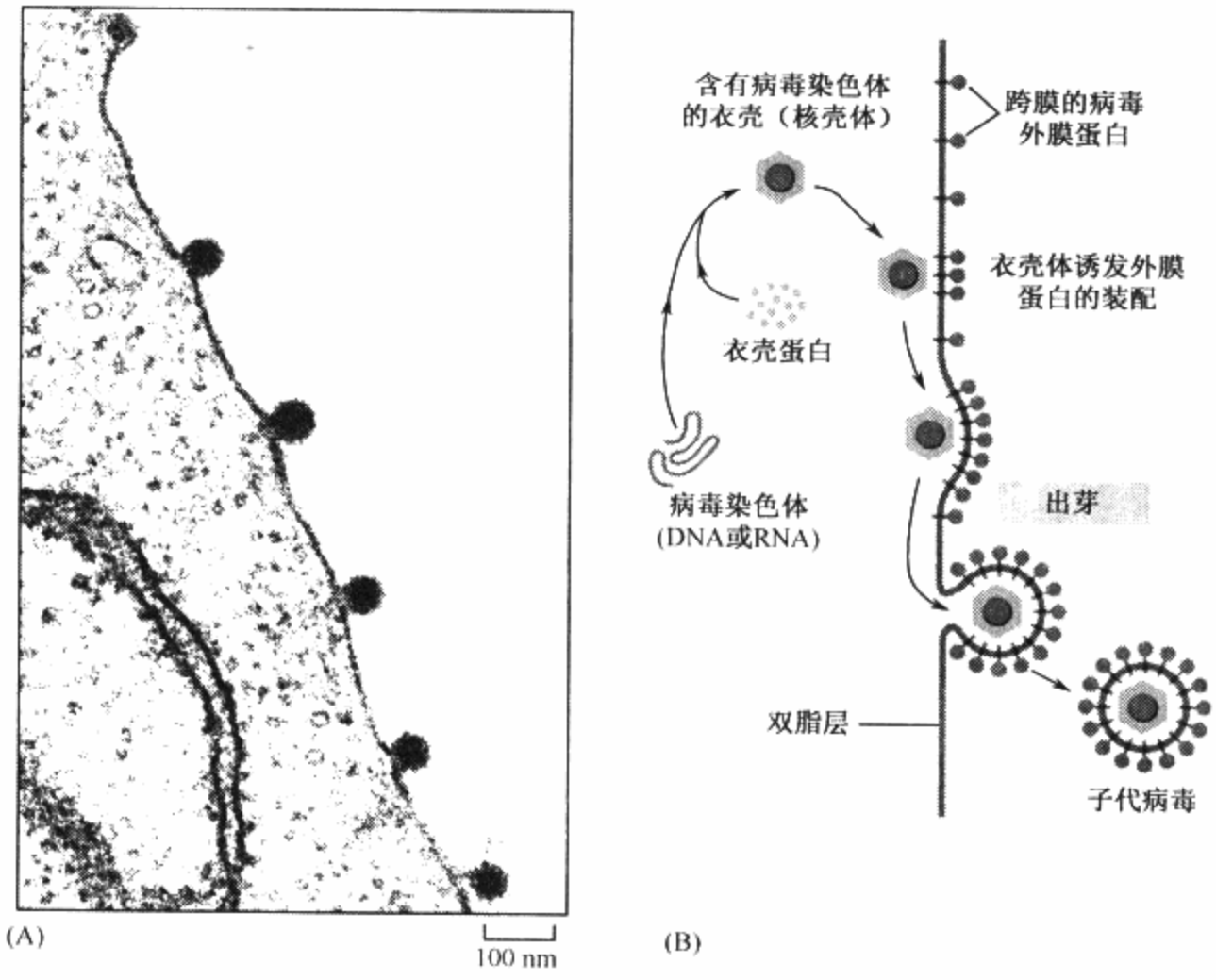


图 25-14　病毒囊膜的获得

（A）一个动物细胞的电子显微照片，显示一个有囊膜病毒（塞姆利基森林病毒）的 6 个拷贝正在出芽。（B）囊膜装配和出芽过程的示意图。包围病毒衣壳的脂双层直接来源于宿主细胞的质膜。相反，这一脂双层中的蛋白质（显示为绿色）由病毒基因组编码［（A）经 M. Olsen 和 G. Griffith 许可］

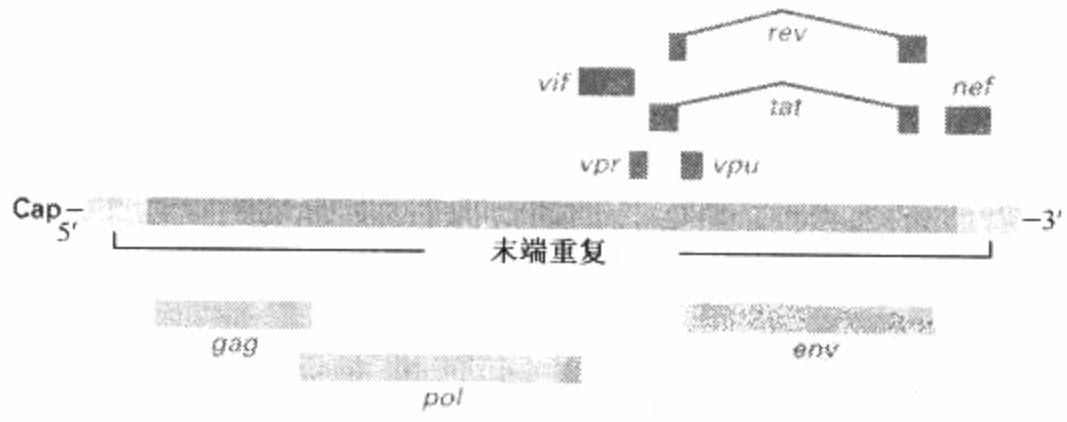


图 25-15　HIV 基因组的图

这个逆转录病毒的基因组包括大约 9000 个核苷酸，含有 9 个基因，它们在图中的位置分别显示为绿色和红色。其中单个基因（绿色）常见于所有逆转录病毒：*gag* 编码衣壳蛋白，*env* 编码囊膜蛋白，*pol* 编码逆转录酶和整合酶蛋白（讨论见第 5 章）。HIV 基因组是异常复杂的，因为除了逆转录病毒生活史所需的 3 个大基因（绿色）之外，它还含有 6 个小基因（红色）。至少其中一些小基因编码调节病毒基因表达的蛋白质（*tat* 和 *rev*；图 7-97）；其他的则编码改变宿主细胞过程［包括蛋白质运输（*vpu* 和 *nef*）和通过细胞周期（*vpr*）］的蛋白质。红线表明，RNA 剪接（利用宿主细胞的剪接体）是产生 Rev 和 Tat 蛋白所必需的

虽然有存在这种多样性，但是所有病毒基因组都编码三类蛋白质：用于复制基因组的蛋白质、用于包装基因组和运送病毒给更多宿主细胞的蛋白质，改变宿主细胞的结构或功能以适应病毒的需要的蛋白质（图 25-15）。在本章第二节，我们主要集中于第三类病毒蛋白。

既然病毒复制的大部分关键步骤都是由宿主细胞的装置执行的，那么鉴定有效的抗病毒药物就显得尤其有疑问。例如，尽管抗菌素四环素使细菌核糖体特异中毒，但是要找到一种使病毒核糖体特异中毒的药物将是不可能的，因为病毒利用宿主细胞的核糖体制造蛋白质。控制病毒性疾病的最佳策略是通过给潜在的宿主接种疫苗来加以预防。非常成功的疫苗接种计划已经有效地从这颗行星上消灭了天花，并且即将根除脊髓灰质炎（图 25-16）。

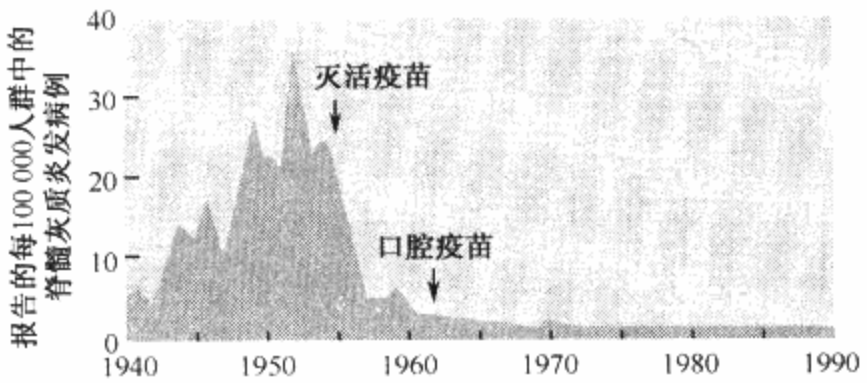


图 25-16　通过疫苗接种消灭病毒病

此图显示美国每年报道的脊髓灰质炎病例数。箭头表示引进萨尔克疫苗（失活的病毒，注射给药）和沙宾疫苗（减毒活病毒，口服给药）的时间

朊病毒是传染性蛋白质

生物系统的所有信息都由结构编码。我们习惯于以核酸序列形式看待生物信息（就像我们描述病毒基因组一样），但是序列本身是描述核酸结构的一种速记编码。编码于 DNA 和 RNA 中的信息的复制和表达严格依赖于这些核酸的结构及其与其他大分子的相互作用。遗传信息的增殖首先要求该信息被储藏在一个结构中，而且该结构能从没有结构的前体复制而来。核酸序列是有机体发现的对这种忠实结构复制问题的最简单和最有力的解决办法。

然而，核酸并不是唯一的解决办法。**朊病毒**是宿主体内通过拷贝一种异常蛋白质结构而复制的传染性病原体。它们能在酵母中存在，它们在哺乳动物中引起神经变性疾病。朊病毒引起的最著名的感染是牛海绵样脑病（bovine spongiform encephalopathy，BSE）或疯牛病，该病偶尔传播给吃了牛的感染部分的人（图 25-17）。分离在绵羊中引起绵羊瘙痒病（scrapie）的传染性朊病毒，接下来数年在实验室痛苦地鉴定感染绵羊瘙痒病的小鼠，最终确定蛋白质本身具有传染性。

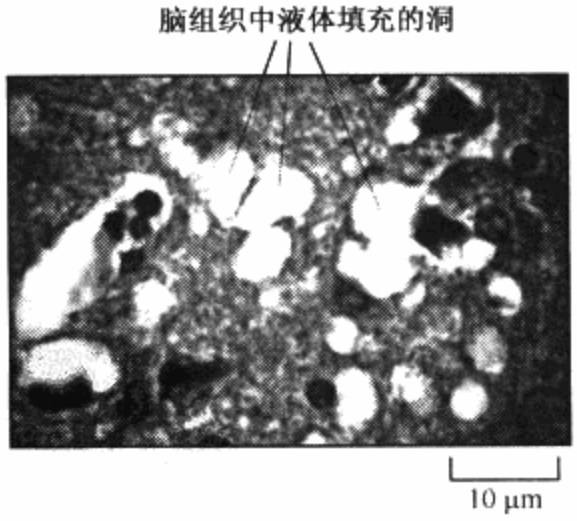


图 25-17　朊病毒感染中的神经变性

这是一张死于库鲁病的患者的脑切片显微照片。库鲁病是一种人类朊病毒疾病，与 BSE 非常类似。在新几内亚岛，该病通过宗教埋葬仪式从一个人传播至另一个人。充满液体的大孔是神经元死亡的位置。这些特征性的孔给了这种综合征一个名字：海绵状脑病（经 Gary Baumbach 许可）

有趣的是，传染性朊病毒由宿主制造，它的氨基酸序列与正常宿主蛋白完全相同。而且，蛋白质的朊病毒形式和正常形式难以根据它们的翻译后修饰加以分辨。它们之间的唯一区别似乎在于它们的折叠三维结构。错误折叠的

朊病毒蛋白易于聚集，它具有使正常蛋白质采用其错误折叠的朊病毒蛋白构象的惊人能力，从而具有传染性（图 6-89）。朊病毒蛋白这种将正常宿主蛋白转换成错误折叠的朊病毒蛋白的能力相当于朊病毒在宿主中复制自己。如果被另一个易感宿主摄入，那么这些新的错误折叠的朊病毒就能传播感染。

现在还不知道正常蛋白质通常怎样才能从数 10 亿种其他可能性中找到唯一的正确折叠构象，而不陷入盲端中间体（讨论见第 3 章和第 6 章）。朊病毒是蛋白质折叠怎样产生危险性错误的一个好例子。但是朊病毒病为何如此不寻常呢？决定一个错误折叠蛋白是表现为朊病毒还是仅仅被产生它的细胞再折叠或降解的限制因素是什么？目前，我们还没有这些问题的答案，朊病毒的研究仍然是一个热门的研究领域。

小结

传染病由病原体引起，包括细菌、真菌、原生动物、蠕虫、病毒，甚至传染性蛋白朊病毒，所有类型的病原体都必须有进入宿主和避免宿主免疫系统直接攻击的机制。大多数细菌没有致病性。那些具有致病性的细菌含有介导与宿主相互作用的特殊致病基因，诱导宿主细胞产生促进病原体复制和传播的特殊应答。致病性真菌、原生动物和其他真核寄生物在感染过程中通常经历几种不同形式；在这些形式之间转换的能力通常为寄生物所需要，以便能在宿主体内生存并引起疾病。在某些情况下，如疟疾，寄生物必须相继通过数个宿主种以完成其生活史。与细菌核真核寄生物不同，病毒没有它们自己的代谢作用，也没有产生由它们的 DNA 或 RNA 基因组编码的蛋白质的固有能力。它们完全依赖于破坏宿主细胞的装置来产生其蛋白质并复制其基因组。朊病毒（最小而且最简单的传染性因子）不含核酸；相反，它们是罕见的、错误折叠的蛋白质，催化宿主内与其一级氨基酸序列相同的蛋白质的错误折叠。

感染的细胞生物学

我们刚才看到，病原体由一组不同的因子组成。病原体引起疾病的机制具有相对多样性。但是所有病原体的生存和成功都需要它们在宿主内定居，到达一个合适的小生境，避免宿主的防御反应，复制，并离开感染宿主以传播至一个未被感染的宿主。在本节中，我们考察许多病原体用于完成这些任务的常见策略。

病原体跨过保护性屏障在宿主内定居

对病原体而言，感染的第一步就是在宿主内定居。人体大部分通过一层厚而相当坚韧的皮肤与环境隔开而受到很好的保护。其他一些人体组织（眼、鼻道和呼吸道、口腔和消化道、泌尿道以及女性生殖道）中的保护性边界则没有如此强大。例如，在氧气和营养都从环境吸收的肺和小肠中，其屏障仅仅是一单层上皮细胞。

皮肤和其他许多屏障性上皮细胞通常密集着正常菌落。一些细菌和真菌病原体也在这些表面定居，并企图通过竞争盖过正常菌落，但是其中大多数（和所有的病毒一样）通过穿越这些屏障到达宿主内未被占领的小生境来避免这种竞争。

屏障上皮（包括皮肤）的创伤允许病原体直接进入宿主内部。这条进入途径对病原体而言几乎不需要专门装备。实际上，正常菌落的许多成员如果通过这些创伤进入宿主内，它们也能引起严重疾病。例如，拟杆菌属（*Bacteroides*）的厌氧菌作为无害菌落在大肠中以极高密度大量存在，但是如果它们通过由创伤、手术或肠壁感染引起的小肠穿孔进入腹膜腔，那

么它们就能引起威胁生命的腹膜炎。皮肤和鼻的葡萄球菌（*Staphylococcus*）或者喉和口的链球菌（*Streptococcus*）也负责许多由于上皮屏障穿孔而引起的严重感染。

然而，专性病原体无需等待允许它们进入宿主的合适创伤。对于一个病原体来说，穿越皮肤的一条非常有效的途径就是通过叮咬昆虫的唾液。许多节肢动物通过吮吸血液给它们自己提供营养，一组不同种类的细菌、病毒和原生动物形成了在节肢动物中生存的能力，以便它们能利用这些叮咬动物作为传播媒介（vector）从一个哺乳动物宿主传播至另一个宿主。正如先前所讨论的，引起疟疾的疟原虫在其生活史中形成了几种形式，包括专门在人和蚊子中生存的一些形式（图 25-10）。通过昆虫叮咬传播的病毒包括几种类型出血热（包括黄热病和登革热）的致病因子和多种病毒性脑炎的致病因子。所有这些病毒都已经获得了在昆虫细胞和哺乳动物细胞中复制的能力，这是病毒通过昆虫媒介传播所必需的。不能在昆虫细胞中复制的血源病毒（bloodborne virus）如 HIV，如果曾经有过的话，也很少从昆虫传播给人。

病原体通过昆虫媒介的有效传播要求各昆虫从大量的哺乳动物宿主吮吸血液。在几个令人吃惊的例子中，病原体似乎改变昆虫的行为以使得它的传播更加可能。像大多数动物一样，采采蝇（它的叮咬能传播在非洲引起昏睡病的原生动物寄生虫布氏锥虫）在吃饱了之后才停止摄食。但是，携带锥虫的采采蝇叮咬要频繁得多，比未感染的蝇摄入更多的血液。锥虫的出现损伤了昆虫机械感受器的功能，即测量通过胞咽的血液以估计胃的饱胀度，有效地愚弄采采蝇，使它觉得仍然饥饿。引起腺鼠疫的鼠疫耶氏菌（*Yersinia pestis*）利用不同的机制确保携带它的跳蚤反复叮咬：它在跳蚤的前肠繁殖，形成最终增大并物理堵塞消化道的聚集体。然后，昆虫不能正常摄食并开始挨饿。在反复试图满足其食欲期间，前肠中的一些细菌涌进叮咬位点，因而将鼠疫传播给新的宿主（图 25-18）。

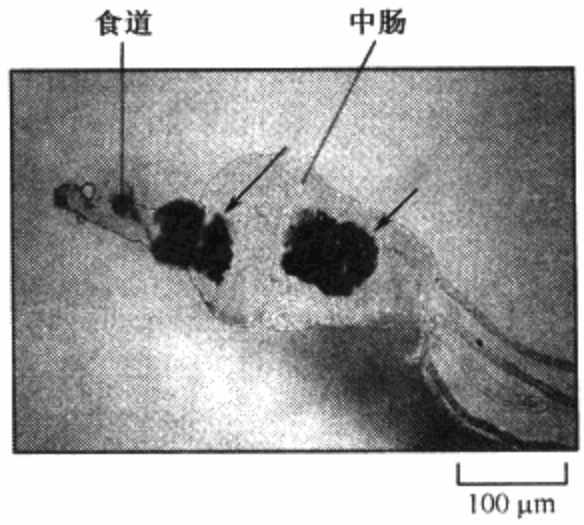


图 25-18　鼠疫的传播

这张显微照片显示从一只蚤上切下的消化道，约两周前，这只蚤吮吸了一只感染了鼠疫杆菌（鼠疫耶尔森氏菌）的动物的血液。细菌在蚤的肠道繁殖，产生大的黏性聚集体（图中红色箭头所指）；左边的细菌团将堵塞食道和中肠之间的通道。这种阻塞物阻止蚤消化它的血膳，因而使它反复叮咬，从而传播感染（摘自 B. J. Hinnebusch, E. R. Fischer and T. G. Schwann, *J. Infect. Dis.* 178：1406～1415，1998. © The University of Chicago Press）

定居于上皮细胞的病原体必须避免被宿主清除

通过皮肤紧紧附着在昆虫吻部仅仅是病原体用于通过宿主防御的第一道屏障的一种策略。虽然许多屏障区域，如皮肤、口和大肠，密集着正常菌落，但是其他区域包括肺的下部、小肠和膀胱通常都近乎无菌，尽管相对来说它们直接接近环境。这些区域的上皮细胞积极对抗细菌的定居。正如第 22 章所讨论的，呼吸上皮被覆一层保护性黏膜，纤毛的协调摆动将黏液和捕获的细菌、碎屑向上扫除并排出肺外。衬在膀胱和上消化道内表面的上皮细胞也有厚厚一层黏液，这些器官分别通过排尿和蠕动被周期性地冲洗，用以冲去不良微生物。感染这些上皮表面的致病菌和致病寄生物有特殊的机制克服宿主的这些清除装置。例如，通过特殊的细菌细胞表面配基或者识别并结合宿主细胞表面分子的蛋白质或蛋白质复合体，感染尿道的寄生物紧贴在膀胱上皮细胞上，抵抗这种冲洗作用。大肠杆菌尿道致病株中的一组重要细菌细胞表面配基是帮助细菌感染肾的 P 纤毛的成分［图 25-4（E）］。这些表面突起可能有几微

米长，因而能跨过厚厚的保护性黏膜层。位于每根纤毛顶端的是与一种特殊二糖结合的一种蛋白质，并且该二糖与膀胱和肾细胞表面发现的一种糖脂结合（图 25-19）。

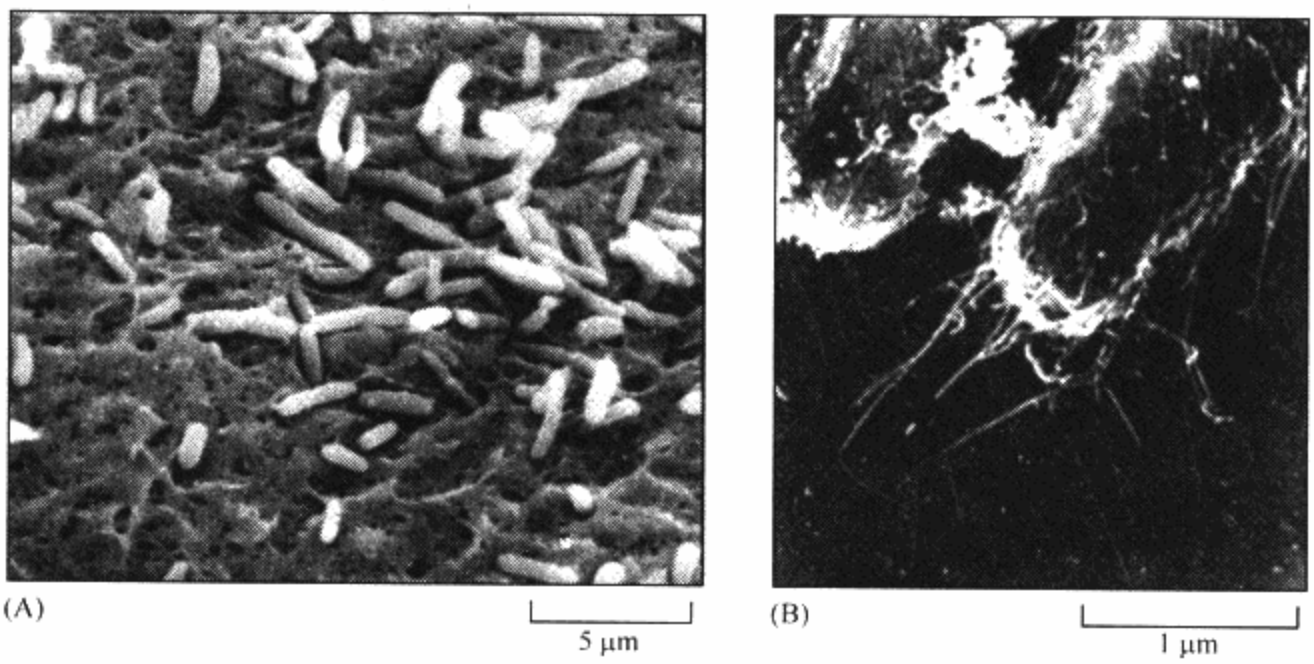


图 25-19　尿道致病性大肠杆菌和 P 纤毛

（A）尿道致病性大肠杆菌的扫描电子显微照片，该菌是膀胱和肾感染的常见病因，图中显示细菌附着在一只感染小鼠的膀胱上皮细胞表面。（B）细菌的特写镜头，显示细菌表面的 P 纤毛［（A）摘自 G. E. Soto and S. J. Hultgren, *J. Bact.* 181：1059～1071，1999；（B）经 D. G. Thanassi and S. J. Hultgren 许可．摘自 *Meth. Comp. Meth. Enzym.* 20：111～126，2000. © Academic Press.］

微生物最难定居的器官之一是胃。除了蠕动冲洗和被一层厚厚的黏膜保护之外，胃内还充满酸类物质（平均 pH 约为 2）。这种极端环境对几乎所有从食物中摄入的细菌来说都是致死的。虽然如此，它还是被一种顽强而坚韧的细菌幽门螺旋杆菌（*Helicobacter pylori*）定居，这种杆菌直到最近才被认为是胃溃疡，可能还有胃癌的主要致病因素。尽管溃疡的更老疗法（酸还原药物和清淡食物）仍被使用以减轻炎症，但是目前有一种疗程短而相对廉价的抗生素能有效治疗一个复发性胃溃疡的患者。胃溃疡可由胃内表面的持续细菌感染而引起的假说最初很受怀疑。这一论点最终被一名做出最初发现的年轻的澳大利亚医生证实：他饮了一瓶幽门螺旋杆菌的纯培养物并得了一种典型溃疡。幽门螺旋杆菌在胃内生存的一条途径是，产生脲酶，这种酶将尿素转化为氨和二氧化碳；通过这种方式，细菌用一层氨水包裹自身，以中和周围的胃酸。细菌至少还表达 5 种细菌细胞表面配基，使它们能附着到胃上皮，它们产生破坏胃上皮细胞的几种细胞毒素，从而产生令人痛苦的溃疡。由此而产生的慢性炎症促进细胞增殖，因而使感染个体易患胃溃疡。

一个更极端的积极定居的例子是百日咳杆菌（*Bordetella pertussis*）——引起百日咳的细菌。百日咳杆菌感染的第一步是定居呼吸上皮。细菌绕过正常的清除机制（第 22 章描述的 *mucociliary escalator*）是通过与纤毛细胞表面紧密结合并在其上进行繁殖而实现的。百日咳杆菌至少表达 4 种细菌细胞表面配基，这些细菌细胞表面配基与纤毛细胞上的特殊糖脂紧密结合。附着的细菌产生多种最终杀死纤毛细胞的毒素，损害宿主清除感染的能力。其中最熟悉的是百日咳毒素（pertussis toxin），像霍乱毒素一样，它是一种 ADP-核糖基化酶。它使 G 蛋白 G_i 的 α 亚基 ADP-核糖基化，引起宿主细胞的腺苷酸环化酶脱调节和环式 AMP 的超量生产（讨论见第 15 章）。除了这些，百日咳杆菌还产生一种自己的腺苷酸环化酶，除非与真核细胞的 Ca^{2+} 结合蛋白钙调蛋白结合，否则它就处于失活状态。因此，这种细菌酶只有在真

核细胞的胞质中才处于活性状态。尽管百日咳杆菌和霍乱弧菌对它们附着的宿主细胞 cAMP 水平的大幅度提高有相似的影响，但是疾病的症状却差异很大，因为这两种细菌定居于宿主的不同部位：百日咳杆菌定居于呼吸道并引起阵发性咳嗽，而霍乱弧菌则定居于肠道并引起水泻。

并非所有特殊定居的例子都要求细菌表达与宿主细胞的糖脂或蛋白质结合的细菌细胞表面配基。相反，在幼儿中引起腹泻的致肠病大肠杆菌，利用第Ⅲ型分泌系统（图 25-7）传递自身表达的受体蛋白（称为 Tir）进入宿主细胞［图 25-20（A）］。在 Tir 插入宿主细胞膜后，一种细菌表面蛋白质与 Tir 的胞外结构域结合，在细胞内触发一系列异常事件。首先，Tir 受体蛋白的酪氨酸残基被宿主的蛋白酪氨酸激酶磷酸化。与真核细胞不同，细菌通常不磷酸化酪氨酸残基，而 Tir 含有一个肽结构域，并且该结构域是一个真核酪氨酸激酶的一个特异识别基序。然后，磷酸化的 Tir 招募小鸟苷三磷酸酶（GTPase）ρ 家族的一个成员，该成员通过一系列中间步骤促进肌动蛋白聚合（讨论见第 16 章）。聚合的肌动蛋白形成一个唯一的细胞表面突出，称为轴承台（pedestal），将紧密结合的细菌从宿主细胞表面向上推出约 10μm［图 25-20（B）、（C）］。

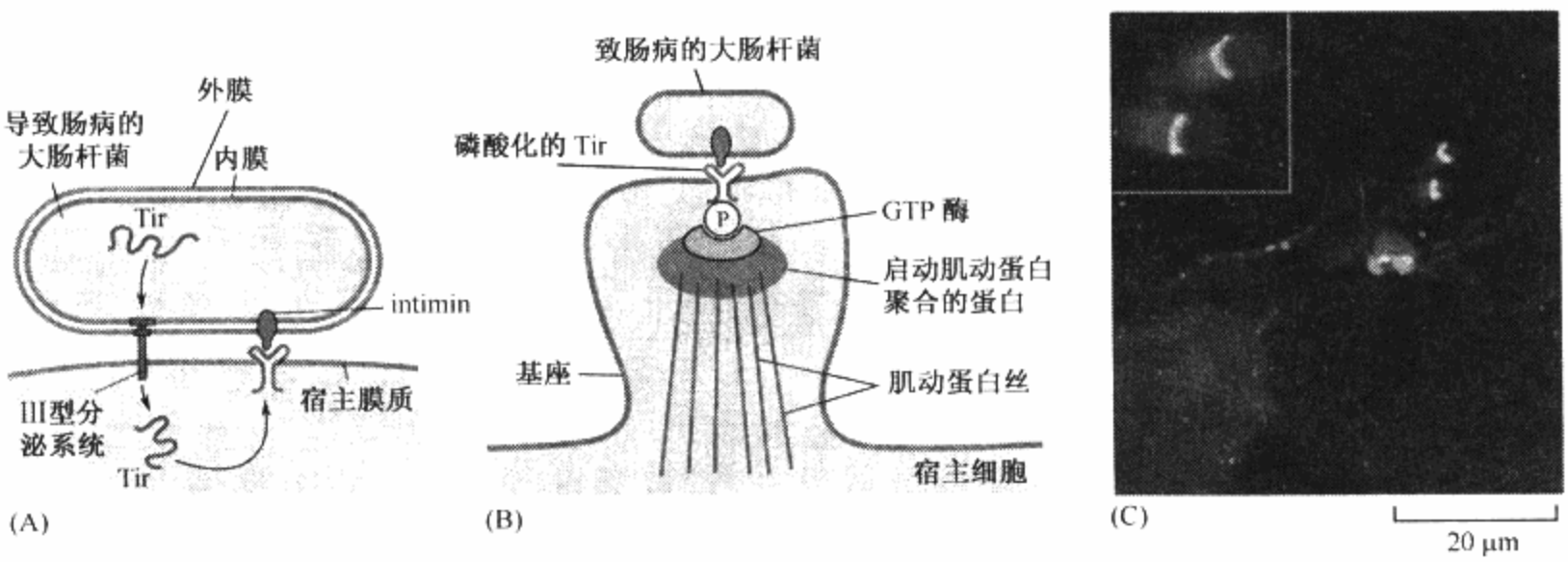


图 25-20　致肠病大肠杆菌（EPEC）和宿主细胞的相互作用

（A）当 EPEC 接触到人的肠道内表面上皮细胞时，它将一个细菌蛋白 Tir 通过Ⅲ型分泌系统传递到宿主细胞内。然后，Tir 插入宿主细胞的质膜，并作为细菌黏附素 intimin 的受体在此发挥作用。（B）Tir 的胞内结构域上的酪氨酸残基被宿主细胞的蛋白酪氨酸激酶磷酸化。然后，磷酸化的 Tir 招募 ρ 家族 GTPase，后者触发肌动蛋白的聚合；它也招募与肌动蛋白相互作用的宿主细胞其他胞质骨架因子。因此，一束肌动蛋白纤维在细菌下面装配形成一个肌动蛋白轴承台。（C）轴承台上的 EPEC。在这张荧光显微照片中，EPEC 和宿主细胞的 DNA 被标记为蓝色，Tir 蛋白被标记为绿色，宿主细胞肌动蛋白纤维被标记为红色。插图显示轴承台上的两个细菌的放大图［（C）摘自 D. Goosney et al.，*Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16：173～189，2000. © Annual Reviews.］

宿主细胞定居的这些例子说明在感染过程中宿主-病原体通讯的重要性。致病生物获得了编码与宿主细胞特殊蛋白质发生特异相互作用的蛋白质的基因。在某些情况下，例如，百日咳杆菌的腺苷酸环化酶，病原体的祖先可能已经从它的宿主获得了这一基因，而在其他情况下，如 Tir，随机突变可能已经产生了被真核蛋白质搭档识别的蛋白质基序。

细胞内病原体进入和离开宿主细胞的机制

许多病原体，包括霍乱弧菌和百日咳杆菌，感染其宿主无需进入其宿主细胞。然而，其他病原体，包括所有的病毒以及许多细菌和原生动物，是**细胞内病原体（intracellular patho-**

gen)。它们复制和生存的首选小生境是在特殊细胞的细胞质内或胞内独立区域。这种策略有几个优势。抗体（讨论见第 24 章）不易接近病原体，病原体不易成为吞噬细胞的靶点（讨论见下面）。然而，这种生活方式确实要求病原体形成用于进入宿主细胞的机制，用于找到一个它能在其中复制的合适的亚细胞小生境的机制，以及用于离开感染细胞传播感染的机制。在本节的余下部分，我们将讨论细胞内病原体利用和修改宿主细胞的生物学来满足这些要求的种种途径中的某些途径。

病毒与展示在宿主细胞表面的分子结合

任何一种细胞内病原体的第一步就是与宿主靶细胞的表面结合。对于病毒，这种结合是通过病毒表面蛋白与宿主细胞表面的特异受体之间的结合来完成的。当然，没有一个宿主细胞的受体是出于允许病原体与之结合的唯一目的而进化的；这些受体都还有其他功能。第一个被鉴定的此类“病毒受体”是允许 λ 噬菌体与细菌结合的大肠杆菌表面蛋白。它的正常功能是负责麦芽糖吸收的一种运输蛋白质。

感染动物细胞的病毒通常利用细胞表面受体分子，这些分子或者含量极其丰富（如为流感病毒所利用的含唾液酸的寡糖），或者仅在那些病毒能复制的细胞类型表面发现（例如，神经生长因子受体、烟碱乙酰胆碱受体或细胞间黏着蛋白 N-CAM，所有这些分子都被狂犬病毒用于特异感染神经元）。单一类型的受体常常被许多类型的病毒使用，一些病毒能使用几种不同的受体。而且，感染相同细胞类型的不同病毒可能每个都使用一个不同的受体。例如，肝炎由至少 6 种病毒引起，它们都在肝细胞中优先复制。其中 4 种肝炎病毒的受体已经被鉴定，但它们各不相同。受体不必是蛋白质。例如，单纯疱疹病毒通过特异的病毒膜蛋白与硫酸类肝素蛋白多糖结合。

通常，病毒需要一个一级受体（primary receptor）和一个二级共受体（secondary co-receptor）才能有效附着和进入宿主细胞。一个重要的例子是 HIV。它的一级受体是 CD4，该蛋白质与许多 T 细胞和巨噬细胞表面发现的免疫识别有关（讨论见第 24 章）。病毒进入还需要有共受体存在，或者是 CCR5（β 趋化因子的受体），或者是 CXCR4（α 趋化因子的受体），

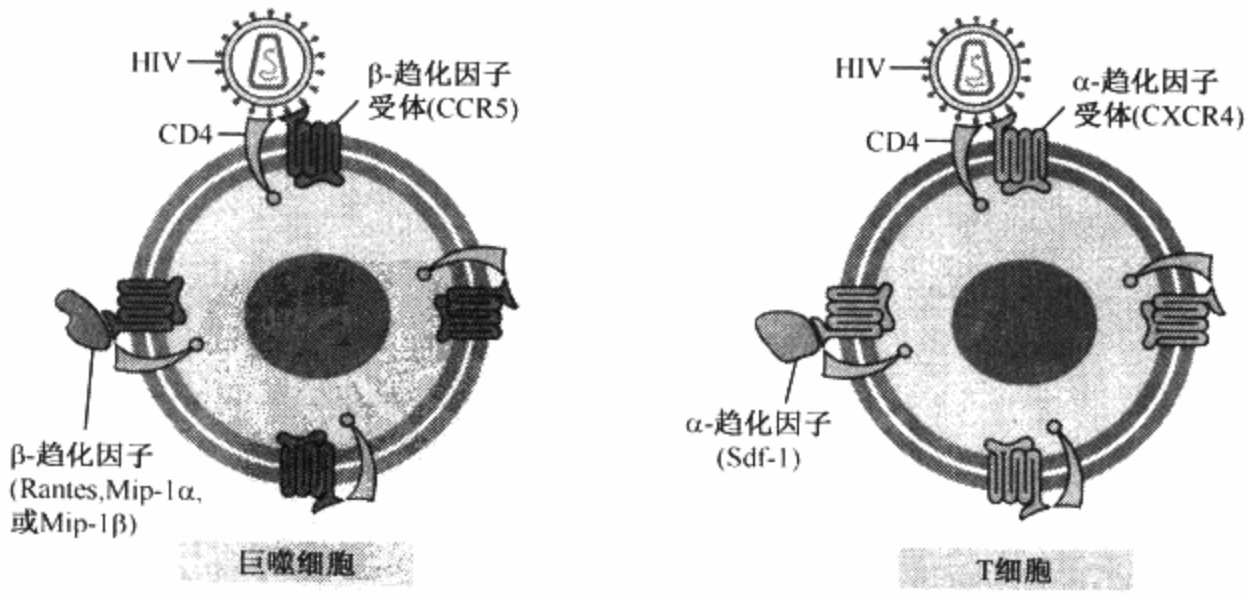


图 25-21　HIV 的受体和共受体

所有的 HIV 株都需要 CD4 作为初级受体。在感染早期，大多数病毒将 CCR5 用作共受体，从而允许它们感染巨噬细胞及其前体——单核细胞。随着感染的进行，产生突变的变异体，此时它们的共受体为 CXCR4，使它们能有效感染 T 细胞。任何一种病毒类型的侵入都能被趋化因子受体的天然配基（Sdf-1 为 CXCR4 的配基，Rantes，Mip-1α 或 Mip-1β 为 CCR5 的配基）所阻断

究竟是哪种共受体，依赖于病毒的特殊变异体（图 25-21）。巨噬细胞仅对利用 CCR5 进入的 HIV 变异体易感，而 T 细胞则对利用 CXCR4 的变异体的感染最有效。在 HIV 感染后前几个月内发现的病毒几乎总是需要 CCR5，这大概可以解释为何携带有缺陷的 *ccr5* 基因不易感染 HIV。在感染的更后阶段，病毒可能转换为利用 CXCR4 共受体，或者适合利用两种共受体；随着疾病的进展，病毒能通过这种方式改变它所感染的细胞类型。

病毒通过膜融合、孔形成或膜破裂进入宿主细胞

在识别并附着在宿主细胞表面后，接着，病毒必须进入宿主细胞，并从其保护性蛋白外壳或脂质外膜释放其核酸基因组。在大多数情况下，释放的核酸仍然与一些病毒蛋白形成复

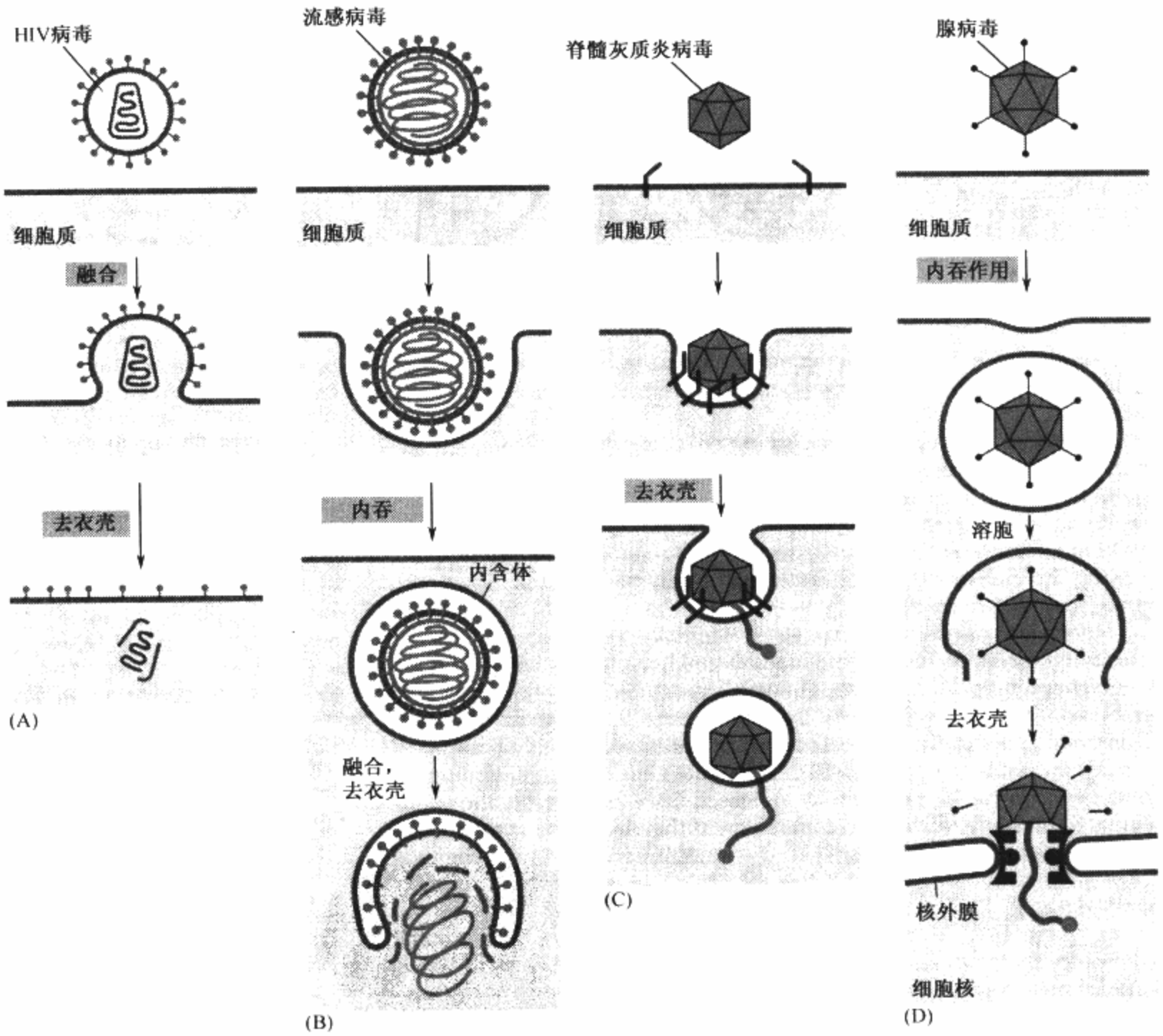


图 25-22　4 种病毒脱壳策略

（A）一些有囊膜病毒，如 HIV，直接与宿主细胞的质膜融合，从而将衣壳释放至胞质溶胶。（B）其他有囊膜病毒，如流感病毒，首先与细胞表面受体结合，从而触发受体介导的内吞作用。当内吞体酸化时，病毒囊膜与内吞体膜融合，将核壳体（蓝色）释放进入胞质溶胶。（C）脊髓灰质炎病毒（一种无囊膜病毒）与宿主细胞表面的受体（绿色）结合，接着在宿主细胞膜中形成孔，将其 RNA 基因组（蓝色）排出。（D）腺病毒（另一种无囊膜病毒）利用一种更加复杂的策略。它诱导受体介导的内吞作用，接着破坏内吞体膜，释放部分衣壳进入胞质溶胶。最后，衣壳停靠在核孔上，并将其 DNA 基因组（红色）直接释放至核内

合体。有囊膜病毒通过与质膜或内吞后的内吞膜融合进入宿主细胞［图 25-22（A）、（B）］。一般认为，融合是通过一个类似于在正常胞内膜泡运输过程中由 SNARE 介导的囊泡融合机制而进行的（讨论见第 13 章）。

融合受到调节，以确保病毒颗粒仅与合适的宿主细胞膜融合，并阻止病毒颗粒之间彼此融合。对于在质膜的中性 pH 融合的病毒，如 HIV，与受体或共受体结合通常会触发病毒囊膜蛋白的构象变化，借以暴露通常被隐藏的融合肽（图 13-16）。其他有囊膜病毒，如流感病毒，直到被内吞之后才开始融合；在这种情况下，常常是早期内吞泡的酸性环境触发病毒表面蛋白的构象变化，从而暴露融合肽（图 25-23）。被泵入早期内吞泡的 H^+ 通过一个例子通道进入流感病毒颗粒，并触发病毒核酸脱壳，随着病毒与内吞泡的膜融合，这些核酸被直接释放进入胞质溶胶。对一些病毒，脱壳作用发生于病毒颗粒被释放进入到胞质溶胶之后。以塞姆利基森林病毒为例，宿主核糖体与衣壳的结合引起衣壳蛋白与病毒基因组的分离。

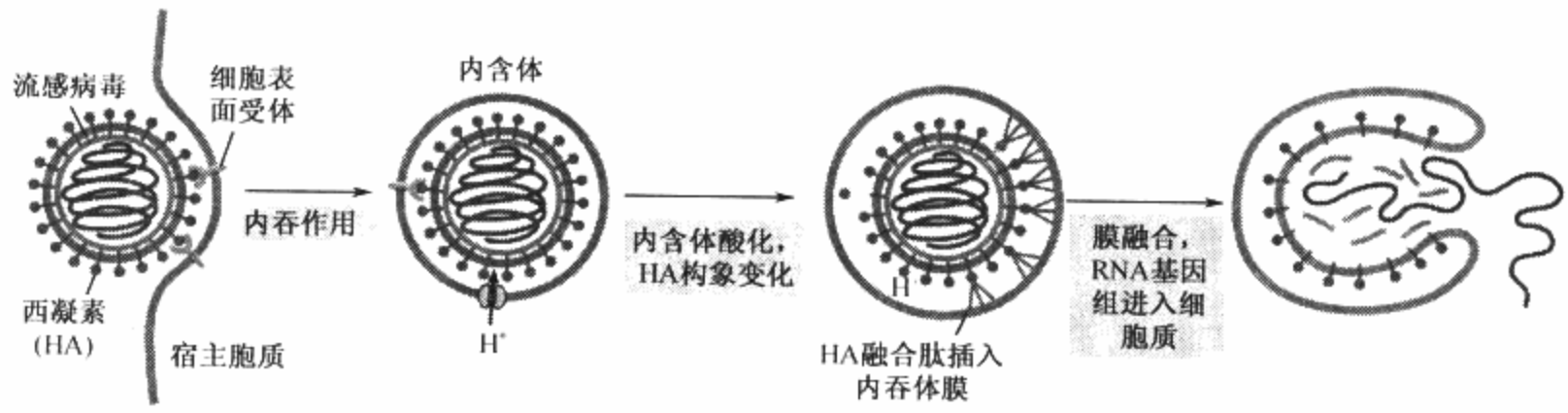


图 25-23　流感病毒所使用的进入策略

病毒血凝素（HA）的球形头部介导病毒与含唾液酸的细胞表面受体的结合。病毒-受体复合体被内吞。在内吞体的酸性环境中，HA 的环状区域变成一个卷曲螺旋，从而将融合肽移至分子顶端，靠近内吞体膜。为了将病毒基因组释放进入胞质溶胶，内吞体中的 H^+ 通过病毒膜中的离子通道进入病毒，从而将 RNA 基因组（蓝色）从衣壳外套释放出来。病毒膜和内吞体膜的融合允许病毒基因组进入胞质溶胶

想象**无囊膜病毒（nonenveloped virus）**怎样进入宿主细胞是更加困难的，因为不知道多大的蛋白质和核酸装置能跨越质膜或内吞泡膜。对于进入机制所了解的是，无囊膜病毒通常在细胞膜中形成一个小孔以便传送病毒基因组进入胞质，或者在被内吞后破坏内吞泡膜。

脊髓灰质炎病毒（poliovirus）利用第一种策略。脊髓灰质炎病毒与其受体的结合触发受体介导的内吞作用和病毒颗粒的构象改变。这种构象改变在其中一个衣壳蛋白上暴露出一个疏水突出物，这一突出物似乎插入内吞泡膜形成一个小孔。然后，病毒基因组通过这一小孔进入胞质，将衣壳留在内吞泡中或细胞表面，或者同时留于此二处［图 25-22（C）］。

腺病毒（adenovirus）利用第二种策略。最初，该病毒通过手提接到的内吞作用被摄入。随着内吞泡的成熟和更加酸化，病毒经历着多个脱壳步骤，结构蛋白被相继从衣壳上去除。其中一些步骤需要病毒蛋白酶的作用，这些酶在胞外病毒颗粒中无活性（可能是由于二硫键的作用），但在内吞泡的还原环境中被激活。然后，这种经过修饰的病毒附着在核孔复合体上，病毒 DNA 基因组通过这一小孔被释放进入核内，在此进行转录［图 25-22（D）］。

在这些不同的策略中，病毒利用许多种宿主细胞分子和过程，包括细胞表面成分、受体介导的内吞作用和内吞泡成熟步骤。这些策略再一次说明，病原体已经进化出利用宿主的基本细胞生物学的复杂途径。

细菌通过吞噬作用进入宿主细胞

细菌比病毒大得多，而且它们由于太大而不能通过受体介导的内吞作用被摄取，而是通过吞噬作用进入宿主细胞。吞噬细菌是巨噬细胞的一个正常功能。它们巡视身体的各个组织，摄入并破坏不需要的微生物。然而，一些病原体已经获得了在它们被吞噬后在巨噬细胞中生存和复制的能力。

结核病（tuberculosis）（一种严重的肺部感染，广泛分布于一些城市人群中）由病原体结核分支杆菌（*Mycobacterium tuberculosis*）引起。通常，这种细菌通过呼吸进入肺，在此被肺泡巨噬细胞吞噬。尽管这种微生物能在巨噬细胞中生存和复制，但是，在获得性免疫系统的帮助下，大部分健康个体的巨噬细胞都将这种感染控制在一个称为结节（tubercle）的损伤内。在大多数情况下，这种损伤被隔离在一个钙化的纤维囊中，可很容易地在感染个体的肺部 X 光片中看到。结核分支杆菌的一个异常特性是，它能被隔离在这种损伤中的巨噬细胞中存活数十年。在后半生，尤其是如果免疫系统因疾病和药物而衰减，那么这种感染可能被再次激活，在肺内传播，甚至传播给其他器官。

肺结核在人群中已经存在数千年，但是另一种生活在肺泡巨噬细胞中的细菌首次被确认为人的病原体是在 1976 年。通常，嗜肺性军团病杆菌（*Legionella pneumophila*）是淡水变形虫的一种寄生虫，通过吞噬作用摄取。当含有嗜肺性军团病杆菌或被感染的变形虫的水滴被吸入肺时，细菌能侵入肺泡巨噬细胞并在其中生活（图 25-24），对细菌而言，肺泡巨噬细胞必须看起来就像是大变形虫。这种感染导致产生被称为**军团病（Legionnaire's disease）**的肺炎类型。这种病原体可通过中央空调系统被有效传播，作为细菌正常宿主的变形虫尤其适于在空调冷却塔中生长；而且，这些冷却系统产生易于被吸入的微水滴。军团病的发生率在最近数十年来大大增加，其暴发常常追踪到办公大楼、医院和旅馆内的空调系统。现代烟雾化的其他形式，包括超级市场内的装饰性喷泉和生产用喷雾器，也与这种疾病的暴发有关。

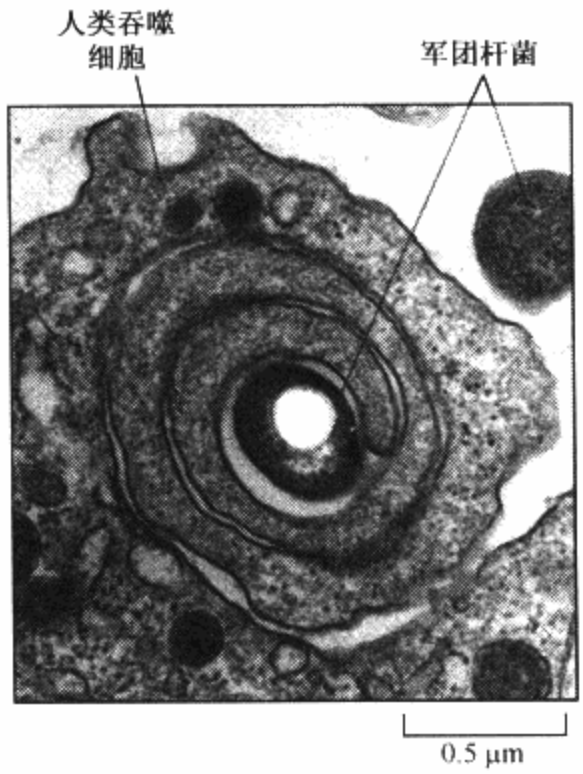


图 25-24　人单核吞噬细胞摄取噬肺性军团病杆菌

这张电子显微照片显示细菌在吞噬细胞表面诱导的异常螺旋结构（摘自 M. A. Horwitz, *Cell* 36:27～33, 1984. © Elsevier.）

一些细菌侵入通常为非吞噬性的细胞。这些细菌能诱导这样一个细胞吞噬它们的一条途径是通过表达一种外源凝集素，这种凝集素与细胞通常用于黏附其他细胞或胞外基质的一种细胞黏着蛋白以高亲和力结合（讨论见第 19 章）。例如，一种引起腹泻的细菌，假结核耶尔森氏菌（是鼠疫耶尔森氏菌的一个近缘种），它表达一种与 β1-整合蛋白结合的蛋白质——侵袭素（invasin）；引起一种罕见而严重的食物中毒的单核细胞增多性李斯忒氏菌，它表达一种与 E-钙黏蛋白结合的蛋白质。与这些跨膜黏着蛋白的结合欺骗宿主细胞试图形成一种细胞连接，它使肌动蛋白和其他细胞骨架成分移动至细菌附着的位点。既然细菌相对宿主细胞而言要小些，那么宿主细胞试图在细菌黏着表面扩展会造成细菌的吞噬性摄入——该过程称为侵入的拉链机制［图 25-25（A）］。侵袭素三维结构的测定肯定了这种侵入形式与细胞黏附的自然过程的相似性。该细菌蛋白有一个 RGD 基序，其结构与层粘连蛋白中的正常 β1-整合蛋白结合位点几乎完全一致（讨论见第 19 章）。

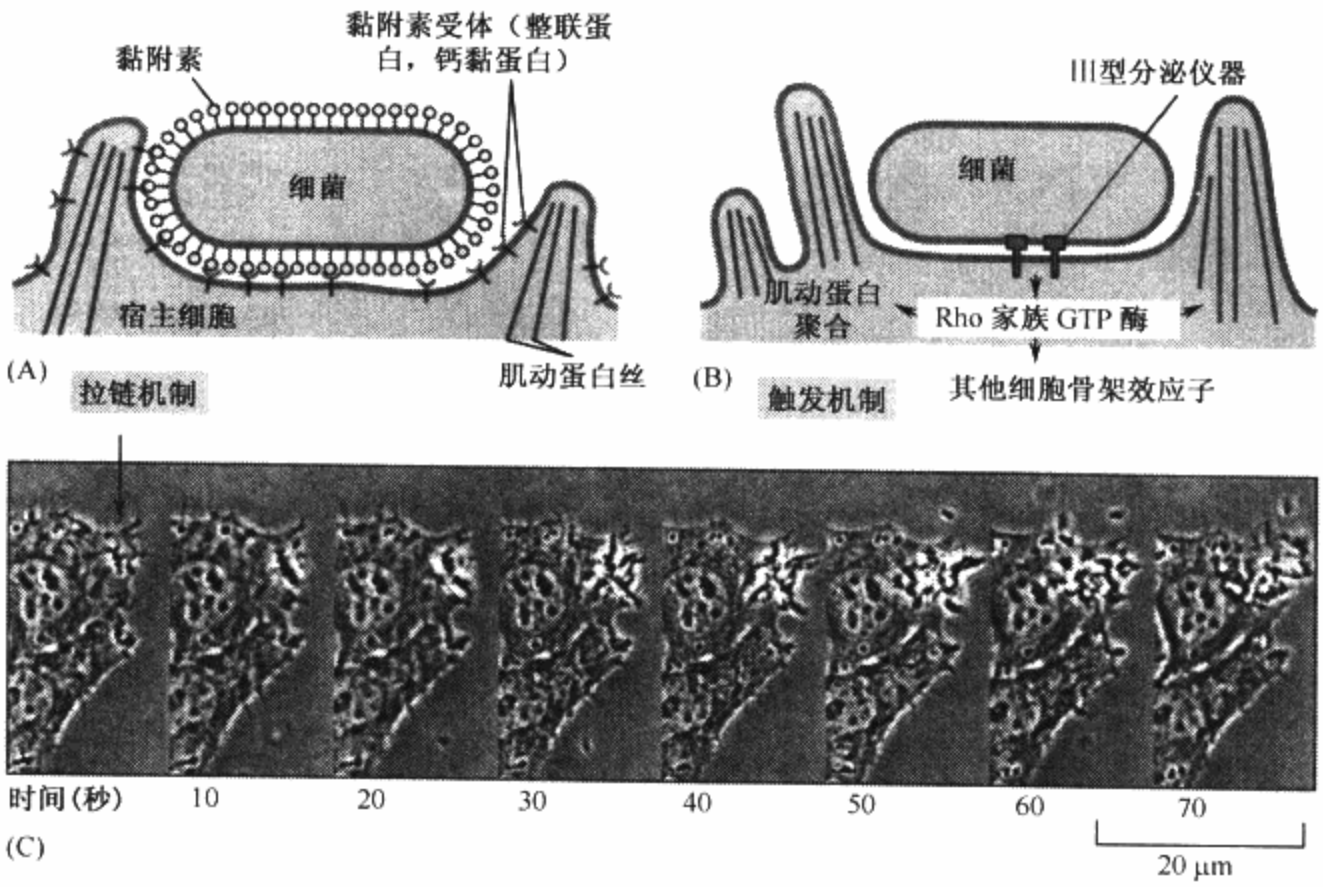


图 25-25　细菌诱导宿主的非吞噬细胞进行吞噬所利用的机制

病原体诱导的吞噬作用的拉链机制（A）和触发机制（B）都需要肌动蛋白在细菌进入位点进行聚合。（C）微速摄影电影的画面，每 10s 记录一次，显示当肠道沙门氏菌与培养中的宿主细胞接触时，一个巨大膜皱褶（箭头）的形成过程。这导致了细菌通过触发机制被吞噬［（C）经 Julie Theriot 和 Jorge Galàn 许可］

细菌侵入非吞噬细胞的另一条途径被称为触发机制［图 25-25（B）］。它为多种不同的病原体所使用，包括引起食物中毒的肠道沙门氏菌。这种引人注目的侵入形式起始于细菌将一组效应分子通过一种Ⅲ型分泌系统注射进入宿主细胞质。其中一些效应分子激活 ρ 家族 GTPase，促进肌动蛋白的聚合（讨论见第 16 章）。其他效应分子与胞质骨架成分更直接地发生相互作用，从而切断肌动蛋白丝，引起交联蛋白的重排。其净效应是在宿主细胞表面产生引人注目的局部波动［图 25-25（C）］，形成富含肌动蛋白的大突出物，将细菌包裹在大的内吞泡——大吞饮体（macropinosome）中。通过触发机制被侵入的细胞，其外表类似于由某些生长因子诱导的这种引人注目的细胞边缘波动，提示在这两种情况下激活的胞内信号级联放大是类似的。

细胞内寄生物积极侵入宿主细胞

通过受体介导的内吞作用摄入病毒和通过吞噬作用摄入细菌需要宿主细胞提供能量。病原体是一个相对被动的参与者，通常提供一个触发因素启动该侵入过程，但并不贡献任何代谢能。相反，胞内真核寄生物（通常比细菌大得多）的侵入通过许多种复杂途径进行，这些途径通常需要寄生物消耗大量的能量。

鼠弓形体（*Toxoplasma gondii*）是一个有启发性的例子，它是猫的寄生虫，偶尔也引起人的严重感染。当这种原生动物与宿主细胞接触时，就伸出一个由微管支撑的结构——类锥形体（conoid），然后重新定向，以便这个类锥形体接触到宿主细胞表面。然后，寄生虫缓慢地挤入宿主细胞。侵入的能量似乎完全来自寄生虫，而且这一过程可通过解聚合寄生虫的（而不是宿主的）肌动蛋白胞质骨架而被中断。随着寄生虫移进宿主细胞，它从一对特化的细

胞器分泌脂质，产生主要由寄生虫的脂质和蛋白质组成的液泡膜。通过这种方式，机体将自身保护在宿主细胞内一个由膜包围的区室中，这一区室不参与宿主细胞膜的运输途径，而且不与溶酶体融合（图 25-26）。特化的液泡膜允许寄生虫从宿主细胞的胞质溶胶摄取代谢中间物和营养，但不摄入更大的分子。

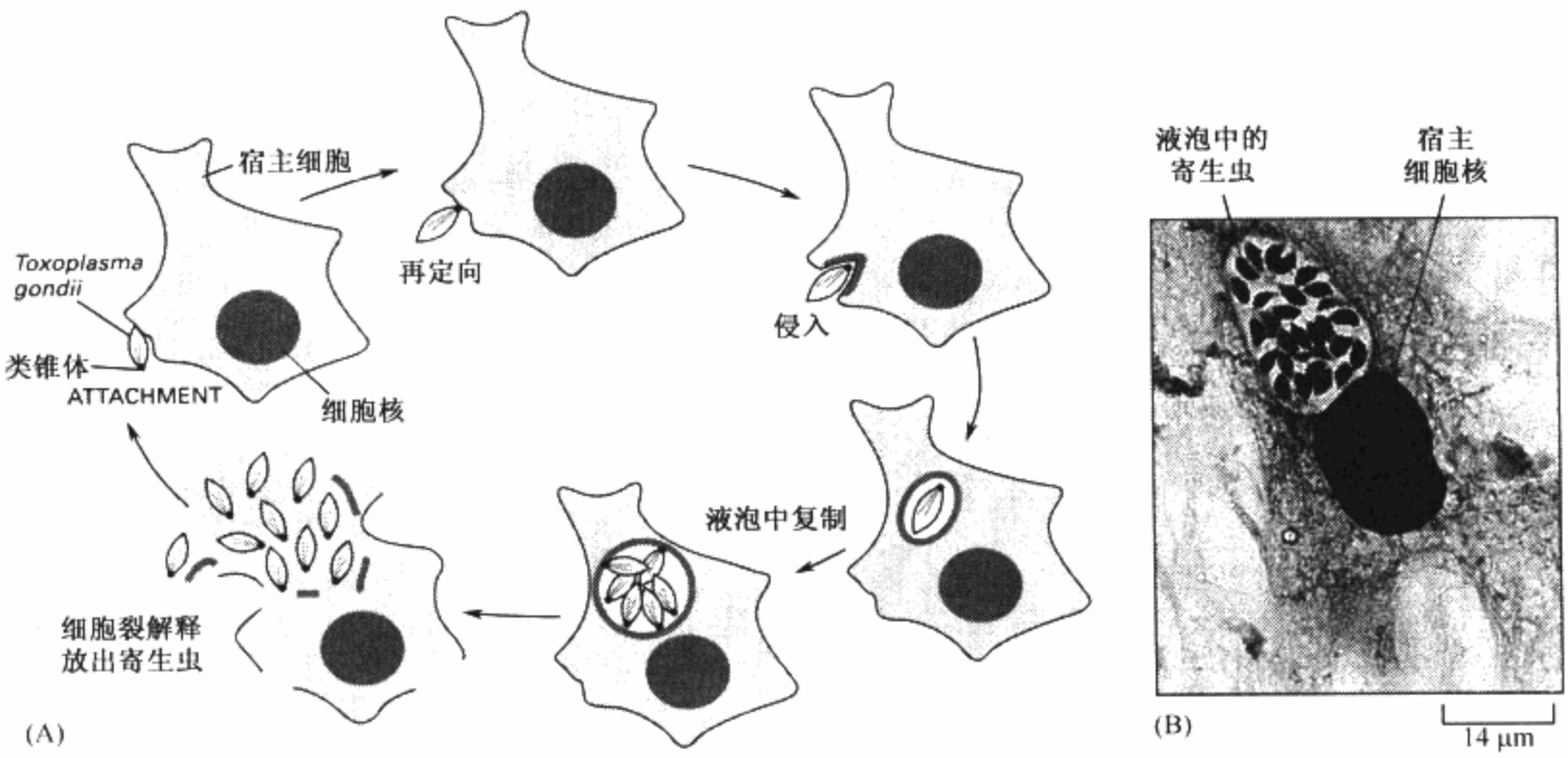


图 25-26　胞内寄生虫鼠弓形虫的生活史

（A）与宿主细胞接触后，鼠弓形虫从内部细胞器分泌脂质（红色）。侵入后，寄生虫在由寄生虫脂质形成的特殊液泡中复制。这种液泡缺乏与正常内吞体有关的宿主细胞蛋白质，寄生虫的液泡不与溶酶体融合。经过几轮复制之后，寄生虫引起宿主细胞溶解，子代被释放，以感染其他宿主细胞（B）在培养细胞的液泡中复制的鼠弓形虫的光学显微照片［（B）经 Manuel Camps 和 John Boothroyd 许可］

原生动物克氏锥虫（*Trypanosoma cruzi*）利用一种完全不同但并不特殊的侵入机制，它主要在墨西哥、中美洲和南美洲引起一种多器官疾病（查加斯病）。附着在宿主细胞表面的 β1-整合蛋白，这种寄生虫诱导宿主细胞质中 Ca^{2+} 浓度的局部上升。Ca^{2+} 信号将溶酶体吸引到寄生虫附着位点，然后溶酶体与质膜融合，允许寄生虫进入一个几乎完全来自溶酶体膜的液泡（图 25-27）。正如我们下面将要讨论的，大多数胞内病原体尽力避免暴露于溶酶体的不

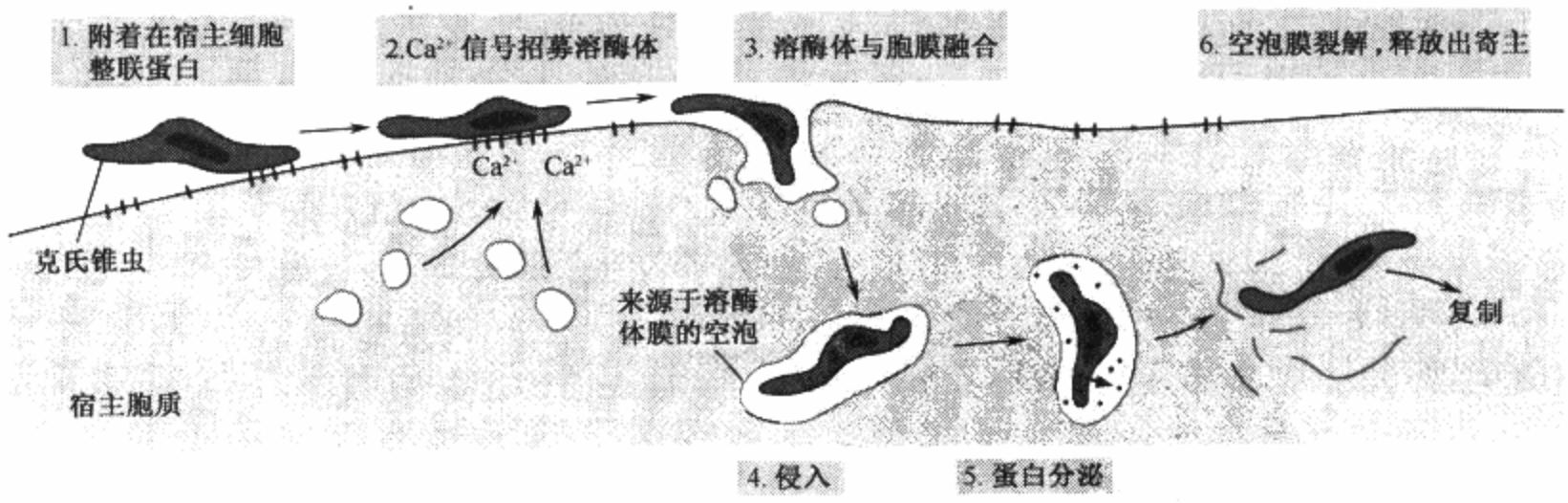


图 25-27　克氏锥虫的侵入

这种寄生虫招募宿主细胞溶酶体至其附着位点。溶酶体与质膜融合，产生一个几乎完全由溶酶体膜构成的液泡。在液泡中短暂停留之后，寄生虫分泌一种破坏液泡膜的蛋白质（孔蛋白），允许寄生虫逃入宿主细胞的胞质溶胶并进行复制

利蛋白质水解环境，但是这种锥虫却将溶酶体用作它进入宿主的工具。在液泡中，这种寄生虫分泌一种转唾液酸酶，从溶酶体的糖蛋白除去唾液酸，并将唾液酸转移到它自己的表面分子上，从而用宿主细胞的糖包裹它自己。接着，该寄生虫分泌一种形成孔的毒素，裂解液泡膜，从而将寄生虫释放进入宿主细胞的胞质溶胶，寄生虫即在此复制。

许多病原体改变宿主细胞内的膜运输

在前一节中讨论的有关胞内寄生虫的两个例子提出了一个摆在所有具有胞内生活方式的病原体面前的共同问题，包括病毒、细菌和寄生虫。它们必须通过某种方式处理宿主细胞的膜运输。在被宿主细胞内吞之后，它们通常会发现，它们处在一个通常会与溶酶体融合的内吞泡中。因此，它们必须或者变更这种内吞泡以阻止融合，在被消化之前逃离这一内吞泡，或者找到在吞噬溶酶体的这种不利环境中生存的途径（图 25-28）。

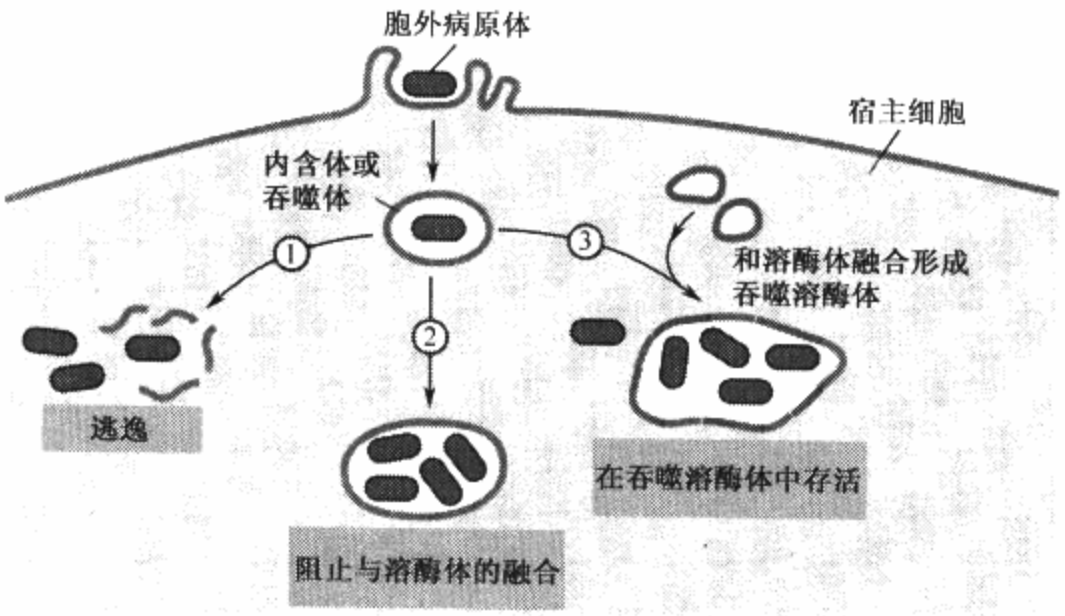


图 25-28　胞内病原体面临的几种选择

胞内病原体进入一个膜包围的隔室后（通常通过内吞作用或吞噬作用），可能利用三种策略之一来生存和复制。利用策略①的病原体包括所有病毒、克氏锥虫、单核细胞增多性李斯忒氏菌和弗氏志贺氏菌；利用策略②的病原体包括恶性疟原虫、结核分支杆菌、肠道沙门氏菌、嗜肺性军团病杆菌和沙眼衣原体；利用策略③的病原体包括伯纳特氏立克次氏体和利什曼原虫

大多数病原体或者利用第一种策略，或者利用第二种策略。人们很少发现能在吞噬溶酶体中生存的病原体。我们已经看到，克氏锥虫利用逃跑路线，就像实际上所有病毒所做的那样（图 25-22）。单核细胞增多性李斯忒氏菌也利用这种策略。它利用先前讨论过的机制被摄入细胞，并分泌一种称为溶血素（hemolysin）的蛋白质，在吞噬体膜上形成大孔，最终破坏膜，并将细菌释放进入胞质溶胶。一旦进入胞质溶胶，细菌继续分泌溶血素，但并不破坏质膜。有两种原因使得溶血素只选择性地破坏吞噬体膜：第一，它在吞噬体酸性 pH 中的活性比在胞质溶胶中性 pH 中的活性高 10 倍；第二，溶血素含有一个 PEST 序列（一个富含脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸和苏氨酸的多肽基序），这一序列为宿主细胞的蛋白降解装置所识别，导致蛋白酶体中细菌溶血素的快速降解（图 6-86）。溶血素在吞噬体中稳定，因为降解装置不能进入其中（图 25-29）。单核细胞增多性李斯忒氏菌分泌的溶血素与非胞内病原体的其他细菌分泌的溶血素紧密相关。然而，这些相关的病原体都缺乏 PEST 序列。似乎单核细胞增多性李斯忒氏菌溶血素获得了一种真正意义上的真核蛋白结构域，允许其活性在宿主细胞内受到调控。

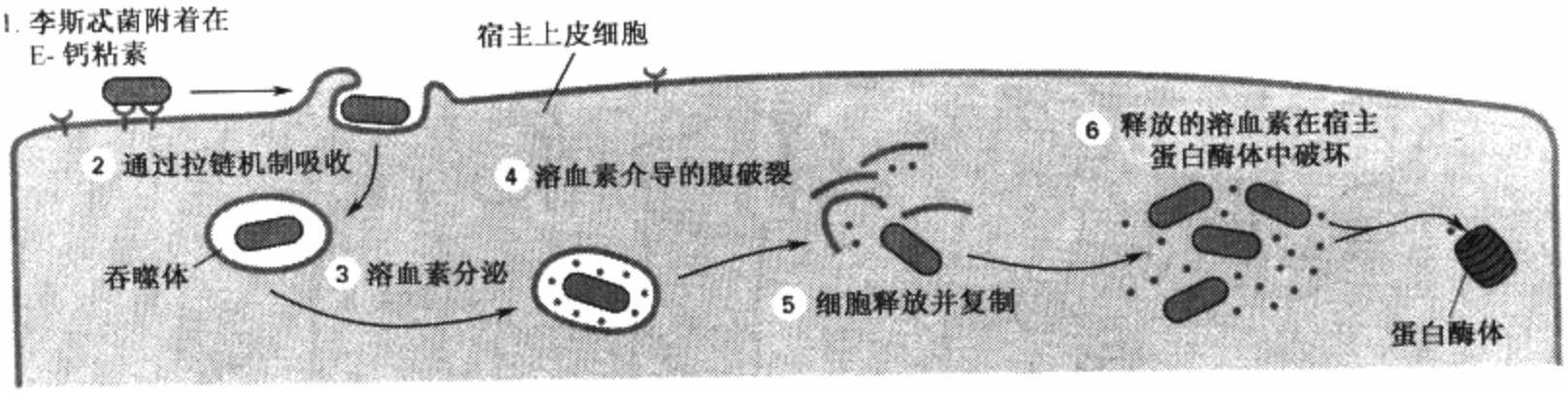


图 25-29　单核细胞增多性李斯忒氏菌选择性破坏吞噬体膜

单核细胞增多性李斯忒氏菌附着在上皮细胞表面的 E-钙黏蛋白，并诱导上皮细胞通过拉链机制将菌本身摄入胞内［图 25-25（A）］。在吞噬体内，细菌分泌疏水蛋白溶血素，在宿主细胞膜上形成寡聚体，从而产生大孔，并最终破坏细胞膜。一旦进入宿主细胞的胞质溶胶，细菌就开始复制，同时继续分泌溶血素。因为溶血素被蛋白酶体快速降解，所以宿主细胞膜仍保持完整

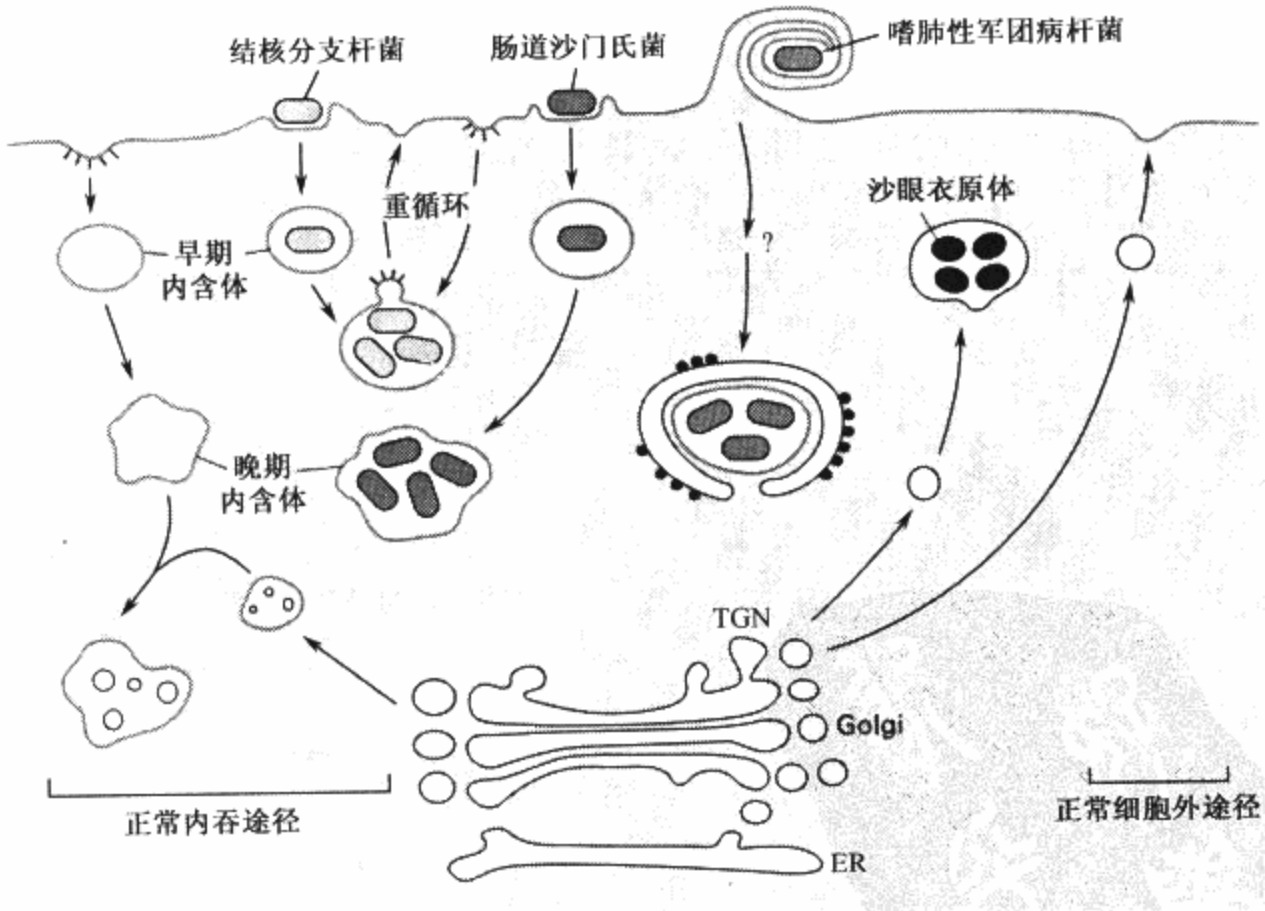


图 25-30　细菌病原体改变胞内膜运输

4 种胞内细菌病原体（结核分支杆菌、肠道沙门氏菌、嗜肺性军团病杆菌和沙眼衣原体）都在膜包围的隔室中复制，但是这 4 种隔室各不相同。结核分支杆菌留在隔室中，这种隔室有内吞体的早期标志，并继续与质膜通讯。肠道沙门氏菌在隔室复制，这种隔室有内吞体的后期标志，但不与表面通讯。嗜肺性军团病杆菌在一个异常隔室中复制，这种隔室被数层粗面型内质网膜包裹。沙眼衣原体在一个细胞外隔室中复制，这种隔室与来自高尔基体的小囊泡融合

胞内细菌和寄生虫所利用的最常见的策略就是变更内吞体区室，以便它们能留下并能复制。它们至少必须通过两种方式来变更这一区室：第一，它们必须阻止溶酶体融合；第二，它们必须提供一条从宿主胞质溶胶输入营养的途径。要做到这一点，不同病原体有不同的策略。正如我们已经看到的，鼠弓形体自己产生膜包围的区室，这一区室不参与正常宿主细胞的膜运输，而允许营养物的运输。细菌不能做这种选择，因为它们太小而不能输入自身的膜供应。结核分支杆菌设法阻止将其包含其中的早期内吞体的成熟，以致它不能酸化或获得晚

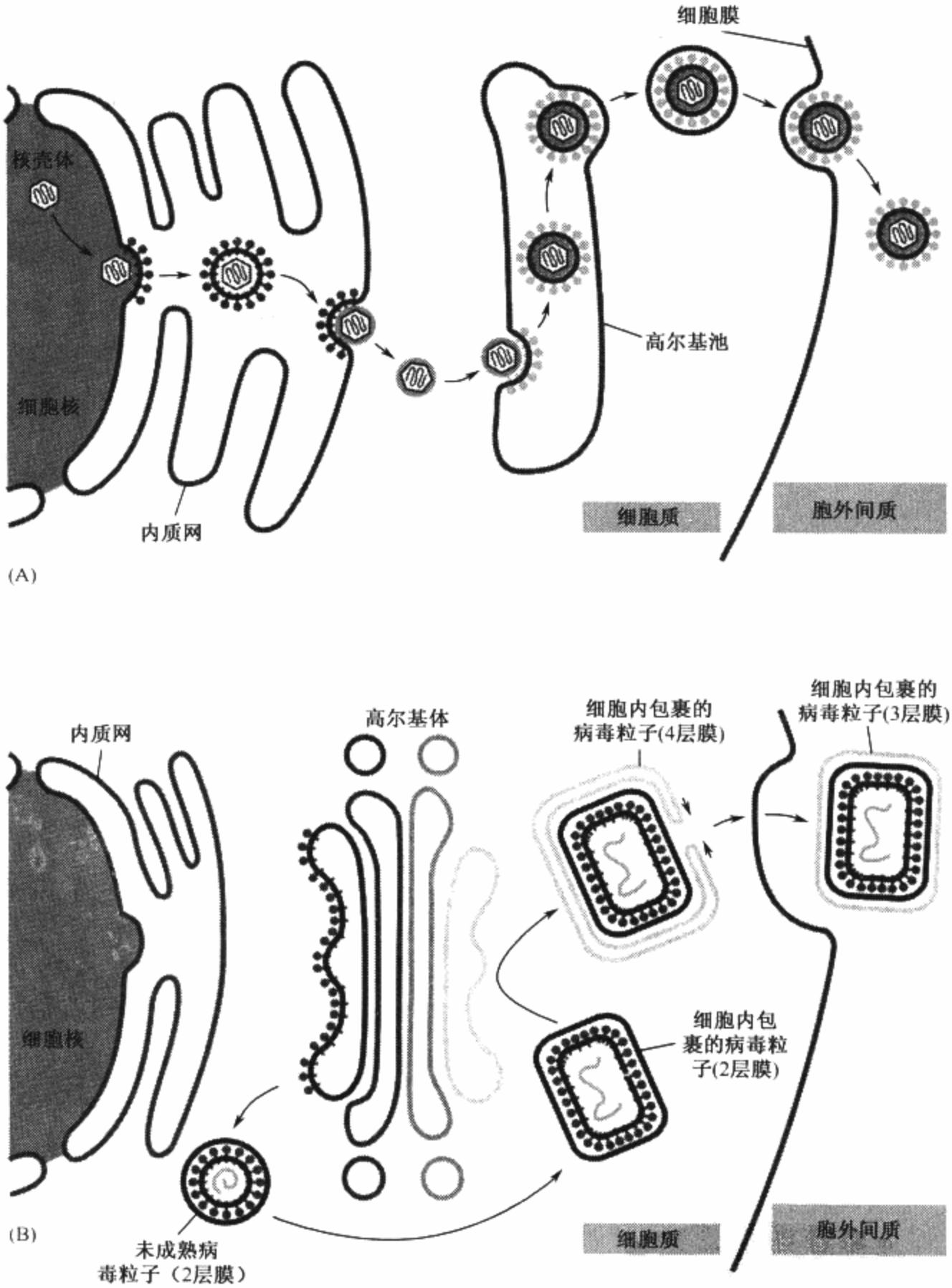


图 25-31　获得病毒囊膜的复杂机制

（A）疱疹病毒的衣壳在核内装配，然后出芽通过内层核膜，从而获得一层膜外套。接着，当它们与外层核膜融合以逃入胞质溶胶时，显然就会丢掉这层外套。随后，它们出芽进入高尔基体，并在另一面再次出芽离开，从而获得两层新膜。然后，当病毒的外膜与质膜融合时，它就携带单层膜从细胞上出芽。（B）痘苗病毒（与引起天花病毒的亲缘关系很近）在胞质溶胶深处的“复制工厂”内装配。最先装配的结构含有两层膜，膜是通过一个不太确定的包装机制从高尔基体获得的。然后，比例不定的病毒颗粒被胞内另一个膜包围隔室的膜卷入。这些病毒颗粒共有 4 层膜包裹。在质膜处融合后，病毒携带三层膜离开

期内吞体的特性。相反，含有肠道沙门菌的内吞体的确会酸化，并获得晚期内吞体的标志，但是它们会在溶酶体融合之前阻止其成熟。其他细菌似乎在胞内区室中找到了完全不同于平常内吞途径的避身处。例如，嗜肺性军团病杆菌在被几层粗面内质网包裹的区室中复制。沙眼衣原体（*Chlamydia trachomatis*；一种性传播的细菌病原体，能引起不育和失明）在一个与部分细胞外途径非常相似的区室中复制（图 25-30）。这些生物用于改变其膜区室的机制尚未明了。

病毒也常常改变宿主细胞中的膜运输。有囊膜病毒必须从宿主细胞的磷脂获得膜。最简单的情况是，病毒编码的蛋白质被插入内质网膜，按照平常的途径，经高尔基体到达质膜，并在此过程中经历各种翻译后修饰。然后，病毒衣壳在质膜处装配，并从细胞表面出芽。这是 HIV 所使用的机制。其他有囊膜病毒通过复杂的方式与宿主细胞内的膜运输途径相互作用（图 25-31）。甚至一些无囊膜病毒也改变宿主细胞中的膜运输，以适合它们自己的目的。例如，脊髓灰质炎病毒的复制是由一个膜相关的、病毒编码的 RNA 聚合酶来执行的。如果宿主细胞膜的表面积增加，那么复制就能更快进行。为了达到这一目的，病毒在宿主细胞内诱导脂质的更快合成，并阻断内质网的分泌。细胞内的膜因此而积累，从而扩大表面积，RNA 复制得以在其上进行（图 25-32）。

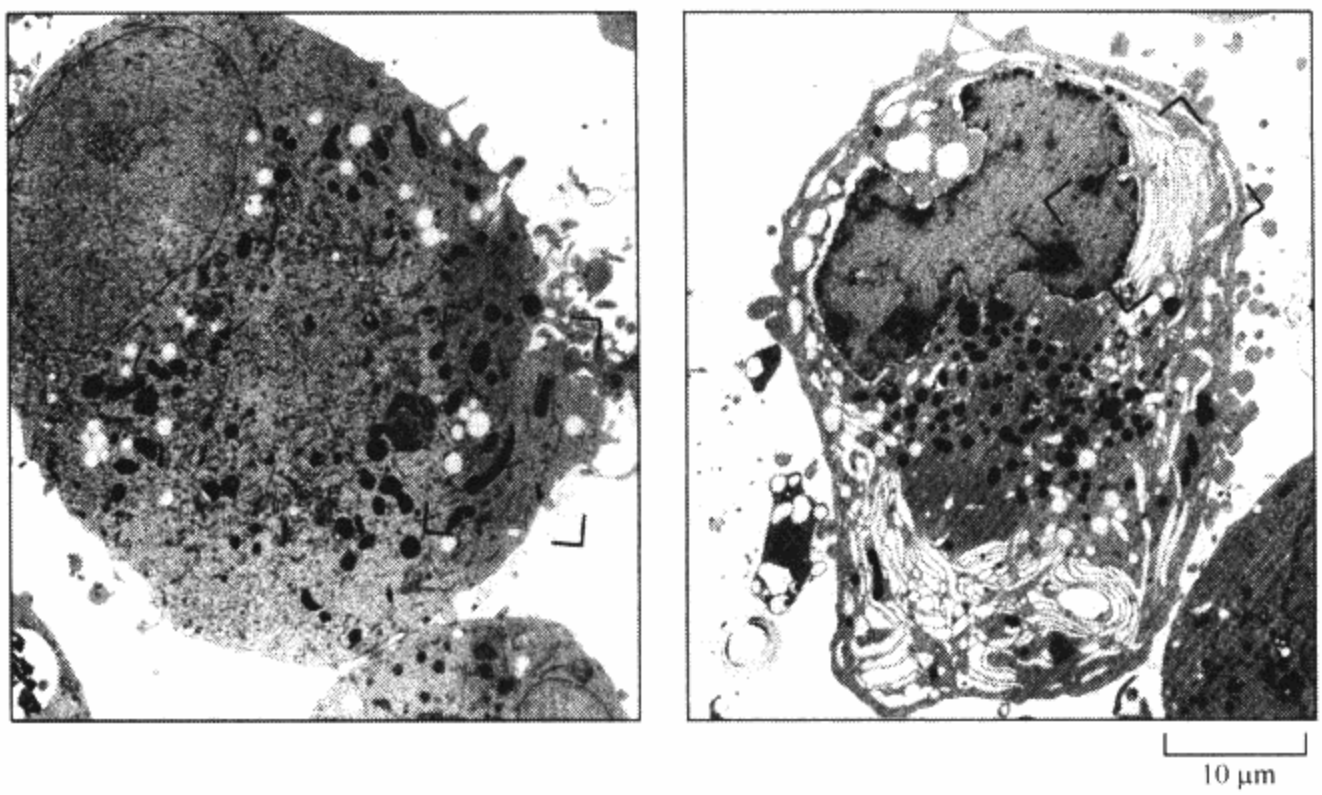


图 25-32　脊髓灰质炎病毒蛋白诱导胞内膜的改变

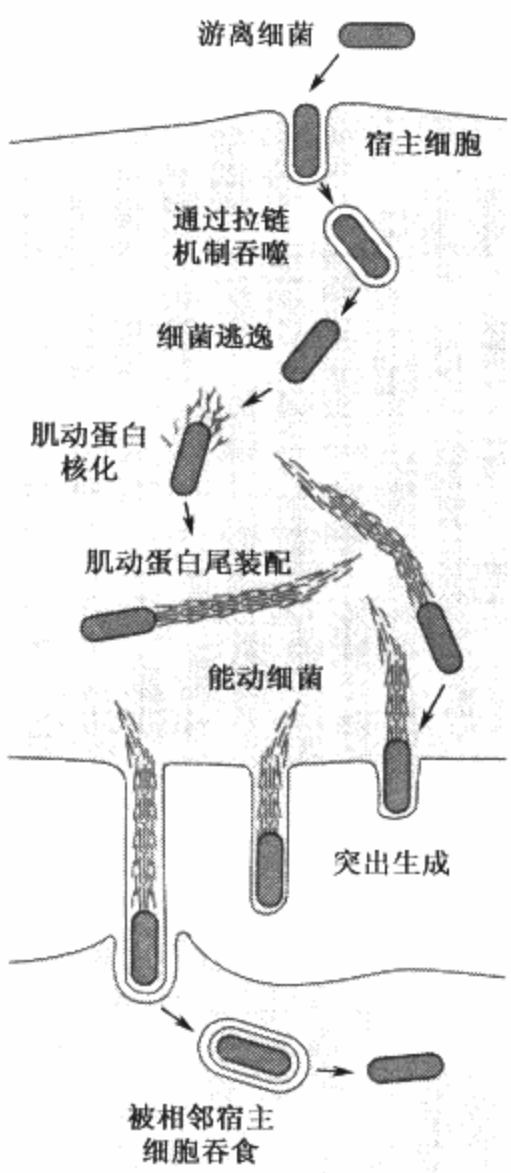
像其他正链 RNA 病毒一样，脊髓灰质炎病毒利用与细胞内膜结合的聚合酶复制它的基因组。它的基因组编码的几个蛋白质改变宿主细胞中膜包围细胞器的结构或能动行为。这些电子显微照片显示一个正常的 Cos-7 细胞（左边）和一个表达脊髓灰质炎病毒 3A 蛋白的细胞（右边）。在转化细胞中，内质网肿胀，并且从内质网到高尔基体的运输受到抑制（摘自 J. J. R. Doedens, T. H. Giddings Jr. and K. Kirkegaard, *J. Virol.* 71：9054～9064，1997）

病毒和细菌利用宿主细胞的细胞骨架在胞内运动

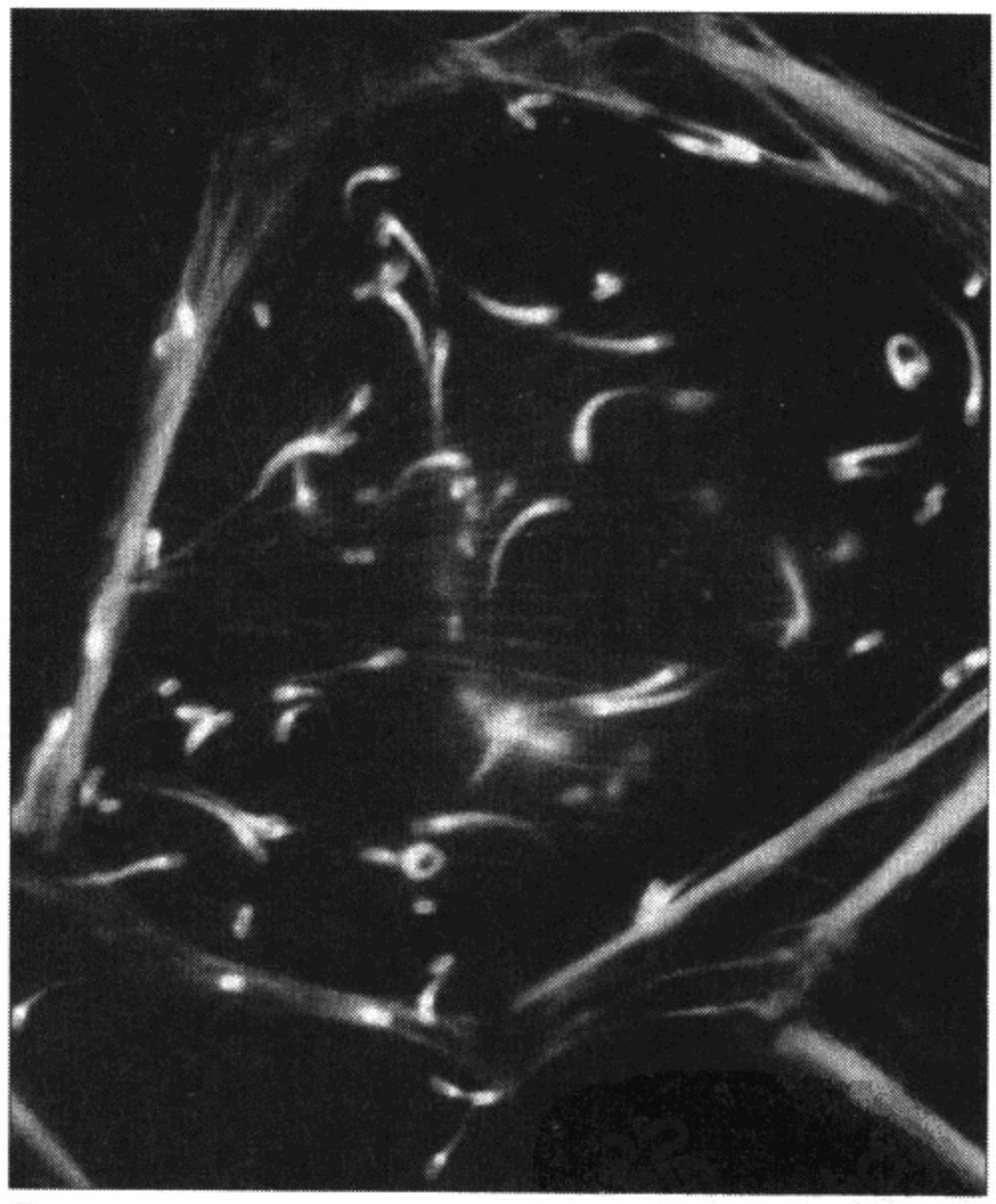
哺乳动物细胞的胞质是极端黏稠的。其中塞满了细胞器并被细胞骨架纤维网络支撑，所有这些都抑制颗粒的扩散、细菌或病毒衣壳的大小。如果一个病原体必须到达细胞的一个特

殊区域以执行其复制循环的某个部分，那么它必须主动地移动至这一区域。至于胞内细胞器的运输，病原体通常利用胞质骨架主动进行。

在宿主细胞的胞质溶胶中（而不是在膜包围的区室中）复制的几种细菌采用一种引人注目的机制来运动，这依赖于肌动蛋白的聚合作用。这些细菌，包括单核细胞增多性李斯忒氏菌、弗氏志贺氏菌（*Shigella flexneri*）和立克次氏体（*Rickettsia rickettsii*；引起落矶山斑疹热），在细菌的一极中诱导宿主细胞肌动蛋白纤维的成核和装配。生长中的纤维产生强大的力量，并以高达 1μm/s 的速率推着细菌穿越细胞质。新的纤维在每个细菌的后端形成，并随着细菌的向前运动，像火箭拖尾一样留在后面，当它们遇到胞质溶胶中的脱聚合因子时，在约 1min 内脱聚合。当一个正在运动的细菌到达质膜时，它继续向前移动，诱导形成一个长而薄的突出物，细菌位于其顶端。这种突出常常被邻近细胞吞食，从而允许细菌进入邻近细胞的胞质，而无需暴露于胞外环境，因而避免被宿主的获得性免疫系统产生的抗体识别（图 25-33）。



(A)



(B)

图 25-33　宿主细胞内和宿主细胞之间的单核细胞增多性李斯忒氏菌以肌动蛋白为基础的运动

（A）这些细菌诱导宿主细胞的胞质中富含肌动蛋白尾的装配，这种尾能使它们迅速移动。能运动的细菌通过形成被邻近细胞吞食的膜包围的突出物而从一个细胞传播至另一个细胞。（B）正在细胞中移动的细菌的荧光显微照片，已被染色以显示细菌和肌动蛋白纤维。注意每个移动细菌（红色）后面肌动蛋白纤维的彗星状尾（绿色）。红色荧光和绿色荧光重叠的区域显示为黄色［（B）经 Julie Theriot 和 Tim Mitchison 许可］

有两种细菌的病原体诱导肌动蛋白装配的分子机制已经被确定。这些机制是不同的，暗示它们是独立进化的。尽管二者都利用相同的宿主细胞调节途径（通常控制肌动蛋白纤维的成核作用），但也有不同点。正如在第 16 章中讨论的，由生长因子或其他胞外信号激活小

GTPase Cdc42 引起一种被称为 N-WASp 的蛋白质的活化，接着激活在一种新肌动蛋白纤维的生长中具有成核作用的 ARP 复合体。单核细胞增多性李斯忒氏菌的一种表面蛋白直接结合并活化 ARP 复合体，以便启动肌动蛋白尾的形成，而弗氏志贺氏菌上的一个不相关的表面蛋白结合并活化 N-WASp，然后 N-WASp 活化 ARP 复合体。然而，值得注意的是，痘苗病毒利用另一种机制在胞内运动，即通过诱导胞内肌动蛋白的聚合，这也是利用这种相同的调节途径（图 25-34）。

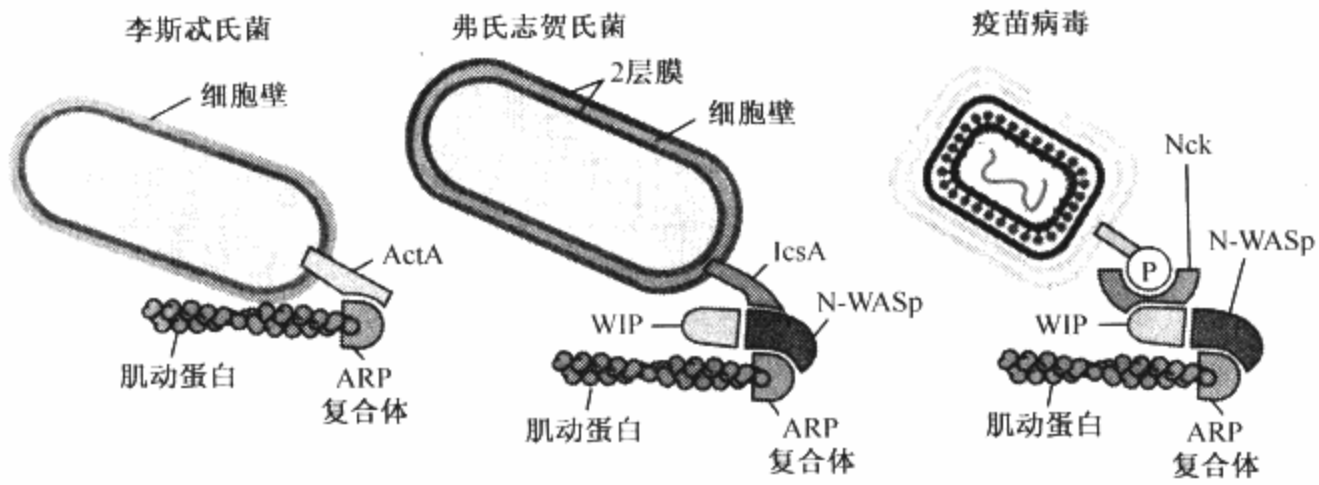


图 25-34　各种病原体使肌动蛋白成核的分子机制

单核细胞增多性李斯忒氏菌、弗氏志贺氏菌和痘苗病毒都利用肌动蛋白的聚合作用在胞内运动。为了诱导肌动蛋白成核，所有这些病原体都招募和激活 ARP 复合体（图 16-28），尽管每种病原体都有不同的招募策略。单核细胞增多性李斯忒氏菌表达一种表面蛋白 ActA，直接结合并激活 ARP 复合体。弗氏志贺氏菌表达一种表面蛋白 IcsA（与 ActA 不相关），招募宿主细胞的信号转导蛋白 N-WASp。N-WASp 接着与其他宿主蛋白一起招募 ARP 复合体，包括 WIP（与 WASp 相互作用的蛋白质）。痘苗病毒表达一种囊膜蛋白，它的酪氨酸被宿主细胞的蛋白酪氨酸激酶磷酸化。然后，磷酸化的蛋白质招募 Nck、Nck 与 WIP 结合。WIP 再与 N-WASp 结合，后者招募并激活 ARP 复合体。一般认为，痘苗病毒所用的更复杂的级联反应非常类似于 ARP 复合体怎样被活动真核细胞中的趋化因子激活。尽管有这些不同的分子策略，但是由这三种病原体形成的肌动蛋白彗星尾看起来非常相似，而且病原体以相似的速度在感染细胞内运动

其他病原体主要依赖于以微管为基础的运输在细胞内运动。感染神经元的病毒很好地说明了这种运动。一个重要的例子是由一组亲神经 α 疱疹病毒（包括引起水痘的病毒）提供的。一旦感染感觉神经元，病毒颗粒就通过以维管为基础的运输途径被运输至细胞核，可能还通过衣壳附着至动力蛋白来介导。在核内复制和装配后，有胞膜病毒沿着微管顺着轴突远离神经细胞体运输，可能通过附着在一个驱动蛋白上（图 25-35）。

已知与微管有关的细菌是沃尔巴克氏体属（*Wolbachia*）。这个吸引人的属包括昆虫或其他无脊椎动物的寄生虫或共生生物中的许多种，它们生活在每个动物细胞的胞质溶胶中。感染从母体垂直传递给子代，因为沃尔巴克氏体也存在于卵中。这种细菌通过与微管结合而保证它们被传递至每个细胞，因此，当一个感染的细胞分裂时，随着染色体的分离，它们同时被有丝分裂纺锤体分开（图 25-36）。正如我们在后面将要讨论的，沃尔巴克氏体感染能明显改变其昆虫宿主的繁殖行为。

病毒接替宿主细胞的代谢作用

大多数胞内细菌和寄生虫携带其自身代谢和复制所需要的基本遗传信息，它们对宿主细胞的依赖仅仅是为了营养。相反，病毒繁殖的大多数方面都利用宿主细胞的基本装置：它们

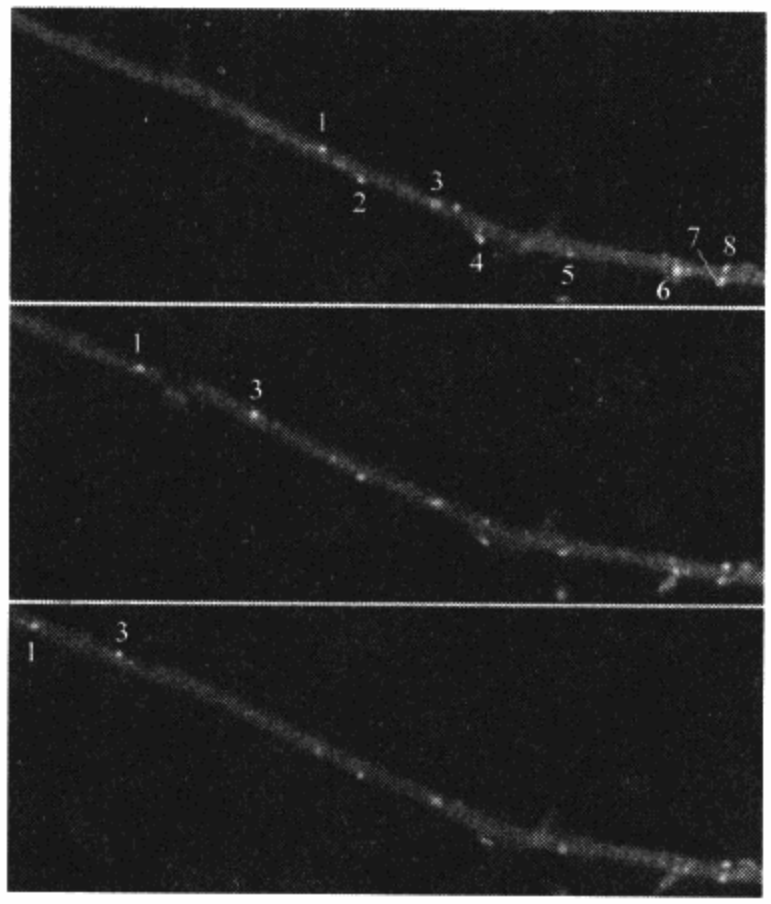


图 25-35　疱疹病毒在轴突中的运输

这种神经细胞已被一种 α 疱疹病毒感染，这种病毒已经过遗传工程改造，表达与其衣壳蛋白之一融合的绿色荧光蛋白（GFP）。在这段轴突中，可见几个病毒颗粒，其中两个（编号为 1 和 3）正离开细胞体（摘自 G. A. Smith, S. P. Gross and L. W. Enquist, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 3466～3470, 2001. © National Academy of Sciences）

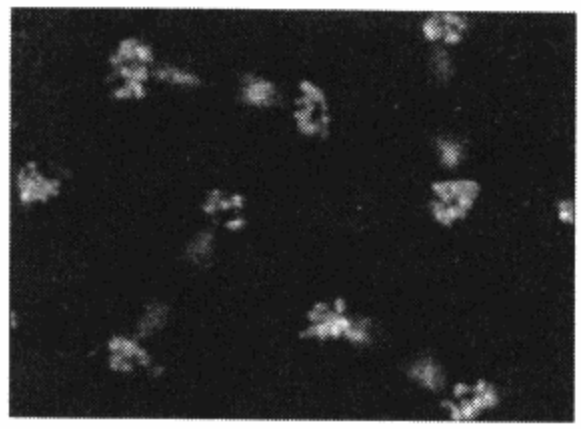


图 25-36　奥尔巴克氏体与微管在一起

与一个果蝇胚胎中的有丝分裂纺锤体微管（绿色）在一起的沃尔巴克氏体（红色）的荧光显微照片。当每个感染细胞分裂时，位于纺锤体两极的细菌团将被分离，进入两个子细胞（摘自 H. Kose and T. L. Karr, *Mech. Cell Dev.* 51: 275～288, 1995. © Elsevier）

都依赖于宿主细胞的核糖体生产蛋白质，一些病毒还利用宿主细胞的 DNA 和 RNA 聚合酶分别进行复制和转录。

许多病毒编码的蛋白质更改宿主的转录或翻译装置，以利于病毒蛋白在宿主细胞的这些装置上合成。结果，宿主细胞的合成能力主要受到新病毒颗粒产量的支配。例如，脊髓灰质炎病毒编码一种蛋白酶，特异切割 TFⅡD 的 TATA 结合因子成分（图 6-16），它通过 RNA 聚合酶Ⅱ有效地关闭所有宿主细胞转录。流感病毒制造一种蛋白质，它能阻断 mRNA 转录本的剪接和多聚腺苷酸化，因此不能从核中输出（图 6-40）。

大部分宿主细胞 mRNA 的翻译起始依赖于一组翻译起始因子识别其 5′帽（图 6-71）。宿主 mRNA 的翻译起始在病毒感染期间常常受到抑制，以致宿主细胞核糖体能被更有效地用于病毒蛋白的合成。一些病毒编码切除宿主细胞 mRNA 的 5′帽的核酸内切酶。一些病毒此时甚至将这些释放的 5′帽作为引物，用于合成病毒 mRNA，该过程称为帽攫取（cap snatching）。其他几个 RNA 病毒基因组编码切除某些翻译起始因子的蛋白酶。这些病毒依赖于病毒 RNA 的与 5′帽无关的翻译，利用内部核糖体进入位点（IRES）（图 7-102）。

少数 DNA 病毒利用宿主细胞的 DNA 聚合酶复制其基因组。这些病毒必须解决一个问题：DNA 聚合酶只在细胞周期的 S 期才高水平表达，而病毒感染的大多数细胞将它们的大部分时间花在 G_1 期。腺病毒解决这一问题是通过诱导宿主细胞进入 S 期。它的基因组编码能

使细胞周期进程中的两种关键抑制因子 Rb 和 p53 失活的蛋白质（讨论见第 17 章）。对于诱导未调节的 DNA 复制的任何一种机制，正如所预期的，这些病毒常常是致癌的。

病原体能改变宿主有机体的行为以便于病原体的传播

正如我们已经看到的，病原体常常以有利于自身生存和复制的方式改变宿主细胞的行为。相似地，病原体常常改变整个宿主有机体的行为，以利于病原体的传播，正如我们前面所看到的有关布氏锥虫和鼠疫耶尔森氏菌的情况。在某些情况下，我们难以断定一种特殊的宿主应答是更有利于宿主还是更有利于病原体。例如，像引起腹泻的肠道沙门氏菌一样的病原体，常常产生自我限制的感染，因为腹泻能有效地将病原体冲走。然而，携带细菌的腹泻能将感染传播给一个新宿主。与此类似，咳嗽和喷嚏帮助从呼吸道清除病原体，但是它们也将感染传播给新个体。一个普通感冒患者一次喷嚏就可能产生 20 000 个微滴，所有这些微滴都携带有鼻病毒或冠状病毒。

病原体改变宿主行为的一个可怕例子见于狂犬病，这在 3000 多年前的埃及著述中首次被描述。这种病毒在神经元中复制，使被感染的人和动物患狂犬病：它们具有异常的攻击性，并形成一种要“咬”的强烈欲望。该病毒被释放在唾液中，并通过咬伤被传输进入受害者的血流，从而将感染传播给一个新的宿主。

鼠弓形体（一种在肌肉和脑组织造成损伤的真核寄生虫）是一个同样值得注意的例子。它只有在其正常宿主猫的体内才能完成其生活史。如果它感染一个中间宿主，如一个啮齿类动物和人，那么对寄生虫来说，这种感染是一个盲端，除非中间宿主被猫食入。行为研究显示，感染鼠弓形体的大鼠丧失了它们对猫的天然恐惧，反而优先搜出散发着猫尿味而不是兔尿味的场所，这恰恰与正常大鼠行为相反。

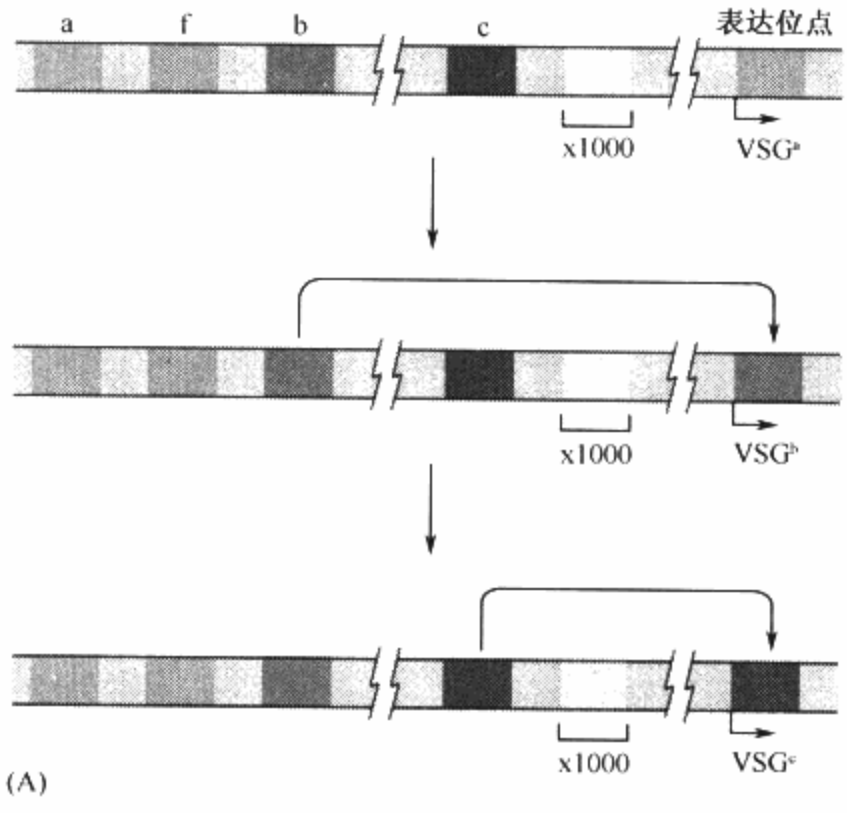
但是，病原体改变宿主行为最引人注目的例子是沃尔巴克氏体。这些细菌利用其宿主的性行为使其传播范围达到最大。正如先前所描述的，沃尔巴克氏体通过狗垂直传递给子代。然而，如果它们在雄体内生活，那么它们就撞进了一个死胡同，因为它们会通过精液排出体外。在果蝇属（*Drosophila*）的一些种中，沃尔巴克氏体改变其宿主的精子，以便它们能使只有被感染的雌蝇的卵受精。这种改变使被感染的雌蝇对未感染的雌蝇产生一种生殖优势，使得沃尔巴克氏体携带者的总比例增加。在其他宿主种中，沃尔巴克氏体的感染杀死雄蝇，却放过雌蝇，结果增加种群中的雌蝇数目，从而增加能产卵以传递感染的个体数目。在少数几种类型的黄蜂中，沃尔巴克氏体的感染使雌蜂产的卵行孤雌生殖，而不需要精子受精；在这个种中，雄蜂已经完全被清除。对其中一些宿主，沃尔巴克氏体已经成了一个不可缺少的共生生物，而且治疗感染会引起宿主的死亡。一方面，人类正在利用这种依赖性：引起非洲河盲的丝状线虫难以被抗寄生虫的药物治疗杀死，但是当河盲患者用治疗线虫类沃尔巴克氏体感染的抗生素进行治疗时，线虫感染也被阻止。

病原体的快速进化

病原体与其宿主之间分子相互作用的复杂性和特异性可能暗示，致病力难以通过随机突变获得。然而，新的病原体正不断涌现，老的病原体正不断改变，使得熟悉的感染难以治疗。病原体有两大优点，使它们能快速进化。第一，它们复制极快，这为自然选择提供了大量的材料。人和黑猩猩的基因组序列在约 800 万年的趋异进化过程中获得了 2%的差异，而脊髓灰质炎病毒的基因组在 5 天内就改变 2%，这段时间约为病毒从口到肠所花的时间。第二，这种快速遗传变异是通过宿主的获得性免疫系统和现代药物（它们消灭未能改变的病原体）

所提供的强大选择压力而产生的。

感染和免疫之间小规模持续斗争的一个例子是抗原性变异（antigenic variation）现象。对抗许多病原体的一个重要获得性免疫应答就是产生识别病原体表面特殊抗原的抗体（讨论见第 24 章）。在感染期间，许多病原体通过改变这些抗原来避免被抗体完全清除。例如，一些寄生虫按程序重排编码其表面抗原的基因。最令人吃惊的例子发生于非洲锥虫，例如，布氏锥虫——一种引起昏睡病和通过昆虫媒介传播的寄生虫［布氏锥虫是克氏锥虫的一个近缘种（图 25-27），但它是在胞外复制而不是在胞内］。布氏锥虫表面被单一类型糖蛋白［变异体特异糖蛋白（variant-specific glycoprotein），VSG］覆盖，VSG 诱导一种快速清除大部分寄生虫的保护性抗体应答。然而，锥虫基因组含有约 1000 个 *VSG* 基因，每个基因编码一个不同抗原特性的 VSG。在任何时候，仅有其中一个基因通过被拷贝到基因组的一个活性表达位点而得到表达。表达的 *VSG* 基因可通过基因重排（将新的等位基因复制到表达位点）而被重复改变。通过这种途径，少数几种改变了 VSG 的锥虫避免抗体介导的清除、复制并引起疾病的复发，导致周期性慢性感染（图 25-37）。



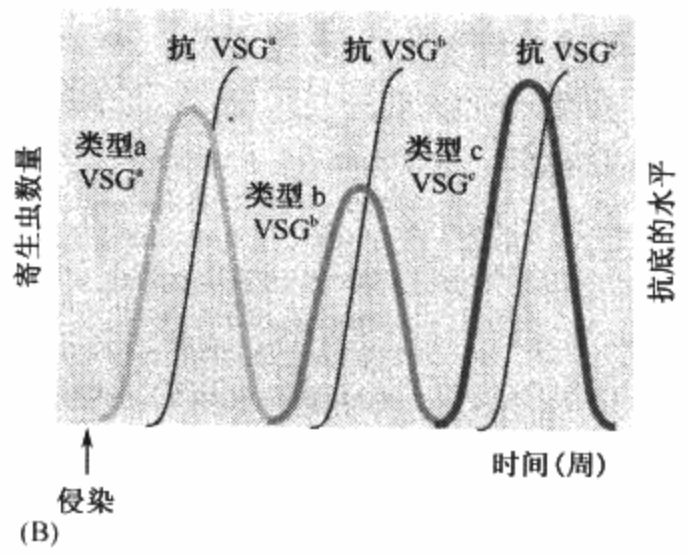


图 25-37　锥虫中的抗原变异

（A）布氏锥虫中约有 1000 个不同的 *VSG* 基因，但仅有一个位点用于 *VSG* 基因表达。一个无活性的基因通过基因转换被复制进入表达位点，并在此时表达。稀有转换事件允许锥虫反复改变它表达的表面抗原。（B）一个感染表达 VSG^a 的锥虫的人会很快建立保护性抗体应答。然而，少数锥虫可能已经转换为表达 VSG^b，此时它能够增殖，直到它们被抗 VSG^b 抗体清除。不过，到那时一些寄生虫将已经转换为 VSG^c，因此这种循环似乎会无限重复

在感染具有倾向差错的修复机制的病毒期间，发生一种不同的**抗原性变异**。例如，逆转录病毒平均每个复制循环获得一个点突变，因为从病毒 RNA 基因组产生 DNA 的病毒逆转录酶不能校正核苷酸的错误插入。一个典型的、未处理的 HIV 感染可能最终使 HIV 基因组与每个可能的点突变有关。在有些方面，高突变率对病原体有利。通过每个宿主内的突变和选择的微进化过程，病毒能从感染巨噬细胞转换成感染 T 细胞（前面已有描述），一旦治疗开始，它就能快速获得抗药性。然而，如果逆转录酶的错配率太高，那么恶性突变就可能积累得太快而不能允许病毒存活。此外，病毒在一个宿主体内的快速多样化并不必定导致病毒群体的快速进化，因为突变的病毒可能不能感染一个新的宿主。对 HIV-1，这种限制的程度可

通过检查感染病毒的不同个体中的序列多样性而估计。值得注意的是，在病毒的编码序列中，仅约 1/3 的核苷酸位置是不变的，在基因组一些部分的核苷酸序列，如 *env* 基因，其差异可达 30%之多。基因组的这种异常可塑性使得开发抗 HIV 的疫苗变得非常复杂，它还可能导致快速抗药性（见下文）。进一步的后果就是快速多样化和新 HIV 株的出现。各种 HIV 株和来自许多种不同猴种的非常类似的猿类免疫缺陷病毒（SIV）之间的序列比较似乎表明，毒性最大的 HIV 类型，HIV-1，可能早自 1930 年就已经从黑猩猩跳变到人（图 25-38）。

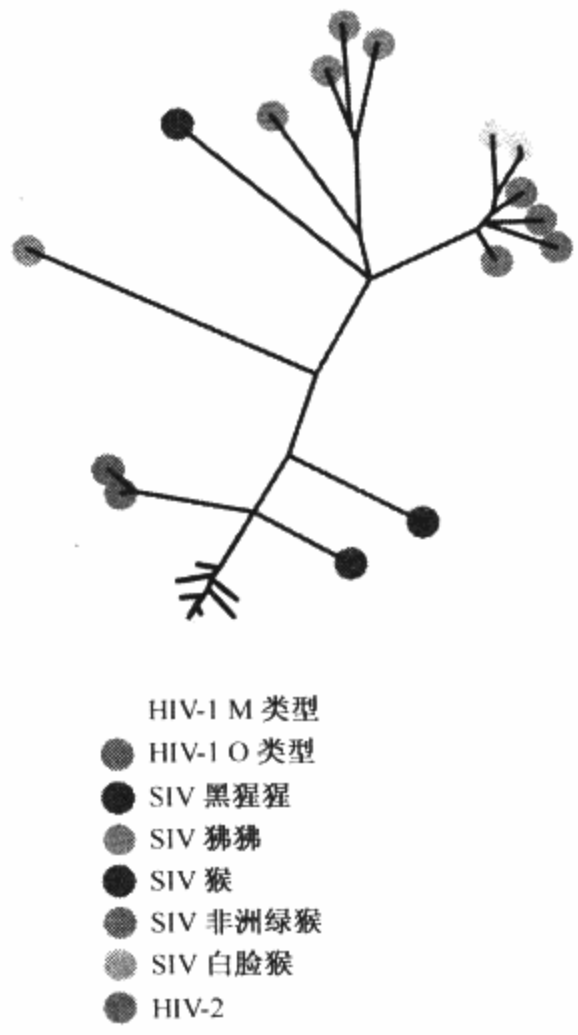


图 25-38　HIV-1、HIV-2 和相关的 SIV 株的多样化

任何两个病毒隔离群之间的遗传距离可根据这根进化树上连接它们的最短路径而找到。HIV-1 被分成两组：主要组（M）和离群组（O）。HIV-1 的 M 组负责全世界的艾滋病流行。HIV-1 的 M 组可进一步细分为从 A 到 G 几个亚型。亚型 B 在美洲和欧洲占优势，B、C 和 E 在亚洲占优势，所有亚型都可在非洲发现。至少有两种猴（黑猩猩和狒狒）的病毒与 HIV-1 的亲缘关系比 HIV-2 与 HIV-1 的更近，暗示 HIV-1 和 HIV-2 是彼此独立产生的。估计 HIV-1 和 SIV-CPZ（黑猩猩）之间遗传距离的差异约 1930。该进化树是根据 *gag* 基因的核苷酸序列而构建的，所用数据库是一个含有约16 000个从全世界分离的病毒样本序列的数据库

细菌中的快速进化是通过水平基因转移而不是点突变而发生。这种水平基因转移大多通过质粒和噬菌体介导。细菌易于从其他细菌获得致病岛和毒性质粒（图 25-5）。一旦一个细菌获得了一组新的致病相关基因，它就可能很快成为人类流行病的一种新的致病因子。例如，鼠疫耶尔森氏菌对大鼠和其他啮齿类是一种传染性地方病，公元前 542 年首先出现于人类病史中，当时康斯坦丁堡城被鼠疫毁坏。鼠疫耶尔森氏菌与其近缘种假结核耶尔森氏菌（引起一种严重的腹泻性痢疾）的序列比较暗示，鼠疫耶尔森氏菌仅在数千年前才作为一种明显不同的菌株而出现，不久之后它就在城市暴发中首次亮相。

在许多情况下，新传染病的出现和进化因人类行为的改变而恶化。例如，在中世纪城市中拥挤而污秽的生活条件促成了鼠疫从天然的啮齿类宿主传播给人。现代人倾向于以高人口密度生活在大城市，这也给传染性有机体创造了发动流行病的机会。例如，流感、结核病和艾滋病，它们本来不可能传播得如此迅速，否则，到目前为止它们仍在更稀疏的人群中传播。原则上，空中旅行可能会让一个无症状的新近感染宿主在几小时或几天之内将流行病带给任何一个未暴露的人群。现代农业实践也培育了一些在猎守和收集的早期人类社会本不可能轻易形成的特定类型传染因子。例如，流感病毒的异常性在于，它们的基因组由几条（通常是 8 条）RNA 链组成。当两株流感病毒感染同一宿主时，两株病毒的 RNA 链可能会重新组合，形成一种不同类型的新流感病毒。1900 年以前，感染人的流感病毒株引起一种很温和的疾病；一株不同的流感病毒感染家禽，如鸭和小鸡，但不能感染人。然而，禽和人的病毒株都能感染猪，并能在猪宿主中重组，形成能引起严重人类疾病的新病毒株。在猪与鸡或火鸡共养的社区内，新重组的流感病毒株周期性出现，从而产生世界性的流行病。这些流行病中，第一个也是最严重的一个是 1918 年的“西班牙流感”流行病，它比第一次世界大战杀死的人还要多。

耐药性病原体是一个日趋紧张的问题

尽管一些人类活动促进了特定传染病的传播，但是公共卫生和医药的进步阻止或减轻了由其他许多疾病所引起的痛苦。有效的疫苗和世界范围内的疫苗接种计划消灭了天花，并大大减少了小儿麻痹症。在富有的工业化国家，许多致死性的儿童期感染，如腮腺炎和麻疹，现在已经很少见到。然而，仍有许多广泛传播的破坏性传染病，如疟疾，还没有得到有效的疫苗。开发治疗而非预防的药物具有同等的重要性。最成功的药物是破坏细菌的抗生素（antibiotics）。青霉素是用于治疗人类感染的第一个抗生素，在第二次世界大战中被及时引入临床，挽救了成千上万个战伤感染者的性命。然而，病原体的快速进化使目标细菌很快就对抗生素产生了抗性；在一种抗生素引入临床和抗性株的出现之间的延迟时间通常仅为几年。当用抗病毒剂治疗感染时，类似的抗药性也在病毒中快速产生。例如，在用逆转录酶抑制剂AZT治疗的HIV感染者中的病毒群体将在几个月之内获得对该药物的抗性。目前治疗HIV感染的临床记录涉及同时使用三种药物，以利于将抗性的获得减到最少。

病原体产生抗药性有三种通用策略：①产生一种破坏药物的酶；②改变药物的靶分子，使得它对药物不再敏感；③阻止药物接近靶，如积极将药物泵出病原体。一旦一个病原体偶然得到一种有效的策略，新获得或新突变的赋予该抗性的基因就会很快传遍整个病原体群体，甚至可能传递给可用相同药物治疗的不同种的病原体。例如，高效而极昂贵的抗生素万古霉素（vancomycin）已被用于治疗许多严重的医院获得性细菌感染，这些细菌已对其他已知抗生素的大多数产生抗性。万古霉素通过结合正在延伸的肽聚糖链的一部分并阻止它与其他链交联而阻止细菌细胞壁生物合成的一个步骤。如果细菌利用不与万古霉素结合的亚单位合成一种不同的细胞壁，那么抗性就产生了。万古霉素抗性最有效的类型是依赖于一个编码7个基因的转座子。这些基因产物共同作用，以感应万古霉素的存在，关闭细菌细胞壁合成的正常途径，并产生一种不同的细胞壁。尽管将这些基因连接成单个转座子肯定是一个非常困难的进化过程（产生万古霉素的抗性需花费15年，而不是通常的一两年），但是该转座子现在可被轻易的转递给其他许多种致病菌。

与传染病的其他方面大部分相同，抗药性问题由于人类行为而被恶化。许多患者服用抗生素治疗病毒性疾病，包括流感、感冒和耳痛，但这并没有任何帮助。以这种方式长期持续滥用抗生素最终可能导致正常菌落产生对抗生素抗性，然后它们将这种抗性传递给病原体。例如，弗氏志贺氏菌引起传染性腹泻的几次抗生素耐药性的暴发都是通过这种途径开始的。这一问题在没有医师处方就可获得抗生素的国家尤其严重，例如，在巴西，感染者体内发现的80%以上的弗氏志贺氏菌菌株对4种或更多种抗生素有抗性。

抗生素也在农业中滥用，它们通常被用作食物添加剂，以加速健康动物的生长。在欧洲，与万古霉素密切相关的一种抗生素通常给牛食用。这些动物中的正常菌落产生的抗性在很大程度上被认为是万古霉素抗性的最初来源之一，这种抗性现在可在威胁人类生命的感染中见到。

小结

所有病原体都有与宿主细胞相互作用的能力，这种相互作用是通过宿主细胞促进病原体的复制和传播，但是，这些宿主-病原体相互作用是多种多样的。病原体常常通过附着或者侵入上皮表面而定居在宿主内，这些表面包括与环境直接接触的肺、肠道、膀胱的内表面和其他表面。细胞内病原体，包括所有的病毒和许多细菌与原生动物，通过许多种机制之一侵入

宿主细胞，并在宿主细胞内复制。病毒主要依赖于受体介导的内吞作用进入宿主细胞，而细菌则利用细胞黏着和吞噬途径。原生动物利用独特的侵入策略，这些策略通常需要明显的代谢消耗。一旦进入细胞，细胞内病原体就搜寻一个有利于它们复制的小生境，它们常常改变宿主细胞的膜运输，利用胞质骨架做胞内运动。除了改变各个宿主细胞的行为之外，病原体往往还会改变宿主有机体的行为，以利于传播至新的宿主。病原体的进化极快，所以新的传染病频繁涌现，旧的传染病获得新的途径以避免人类治疗、预防和根除的企图。

天然免疫

人每天通过接触、摄入和吸入而被暴露于数百万种潜在病原体。我们避免感染的能力部分依赖于获得性免疫系统（讨论见第 24 章），这一系统能记住以前遭遇过的特殊病原体，并当它们再次攻击时破坏它们。然而，当首次暴露于一种新病原体时，获得性免疫应答徐徐形成，因为 B 细胞和 T 细胞的特异克隆必须被活化和扩张；因此它可能需要一周左右的时间才能使应答生效。相反，倍增时间为 1h 的单个细菌能产生约 2000 万个子代，其感染在 1 天之内就能充分发展。因此，在暴露于一种新病原体关键的前面几小时和几天，我们依赖于**天然免疫系统**保护我们免受感染。

与获得性免疫应答不同，天然免疫应答并不特异于一种特殊的病原体。它们依赖于一组蛋白质和吞噬细胞识别病原体的保守特征，并且迅速被激活以帮助破坏侵入者。尽管获得性免疫系统是在少于 5 亿年前在进化过程中出现并且只限于脊椎动物，但是天然免疫系统发现于脊椎动物和非脊椎动物中，还在植物中发现，而且调节它们的基本机制是保守的。正如第 24 章所讨论的，在脊椎动物中，激活获得性免疫系统也需要天然免疫系统。

上皮细胞表面有助于预防感染

在脊椎动物中，皮肤和其他上皮表面，包括肺和肠道的内表面（图 25-39），在体内和外界之间提供了一个物理屏障。相邻细胞之间的紧密连接（讨论见第 19 章）阻止潜在病原体的轻易进入。体内的上皮表面也被覆盖一黏液层，保护这些表面免受微生物的、机械的和化学的创伤；许多两栖动物和鱼类也有一个黏液层覆盖在它们的皮肤上。这层黏滑的黏液涂层主要由分泌的黏蛋白和其他糖蛋白组成，它有助于机械阻止病原体附着到上皮组织上。它还方便通过上皮细胞纤毛的挥动而进行清除（讨论见第 22 章）。

黏液层也含有破坏病原体或抑制它们生长的物质。其中最丰富的是被称为**防御素（defensin）**的抗微生物肽，发现于所有动物和植物中。一般来说，它们短小（12～50 个氨基酸），带正电，并在它们的折叠结构中有疏水结构域或两亲结构域。它们组成一个不同的家族，具有广谱的抗微生物活性，包括破坏或失活革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌、真菌（包括酵母）、寄生虫（包括原生动物和线虫），甚至像 HIV 一样的有囊膜病毒。防御素也是中性粒细胞中最丰富的蛋白质类型（见下文），被中性粒细胞用于破坏被吞噬的病原体。

现在仍然不知道防御素是怎样破坏病原体的。一种可能性是，它们利用其疏水结构域或两亲结构域插入受害者的质膜，从而破坏膜的完整性。它们对病原体的选择性优于对宿主的选择性的部分原因可能来自它们优先选择不含胆固醇的膜。在破坏病原体的膜之后，带正电的肽也可能与微生物内各种带负电的靶目标相互作用，包括 DNA。因为防御素和它们破坏的微生物之间的相互作用具有相对非特异的性质，所以对微生物来说，获得对防御素的抗性是困难的。因此，原则上，防御素可能是与感染做斗争的有用治疗因素，或者单独或者与更多

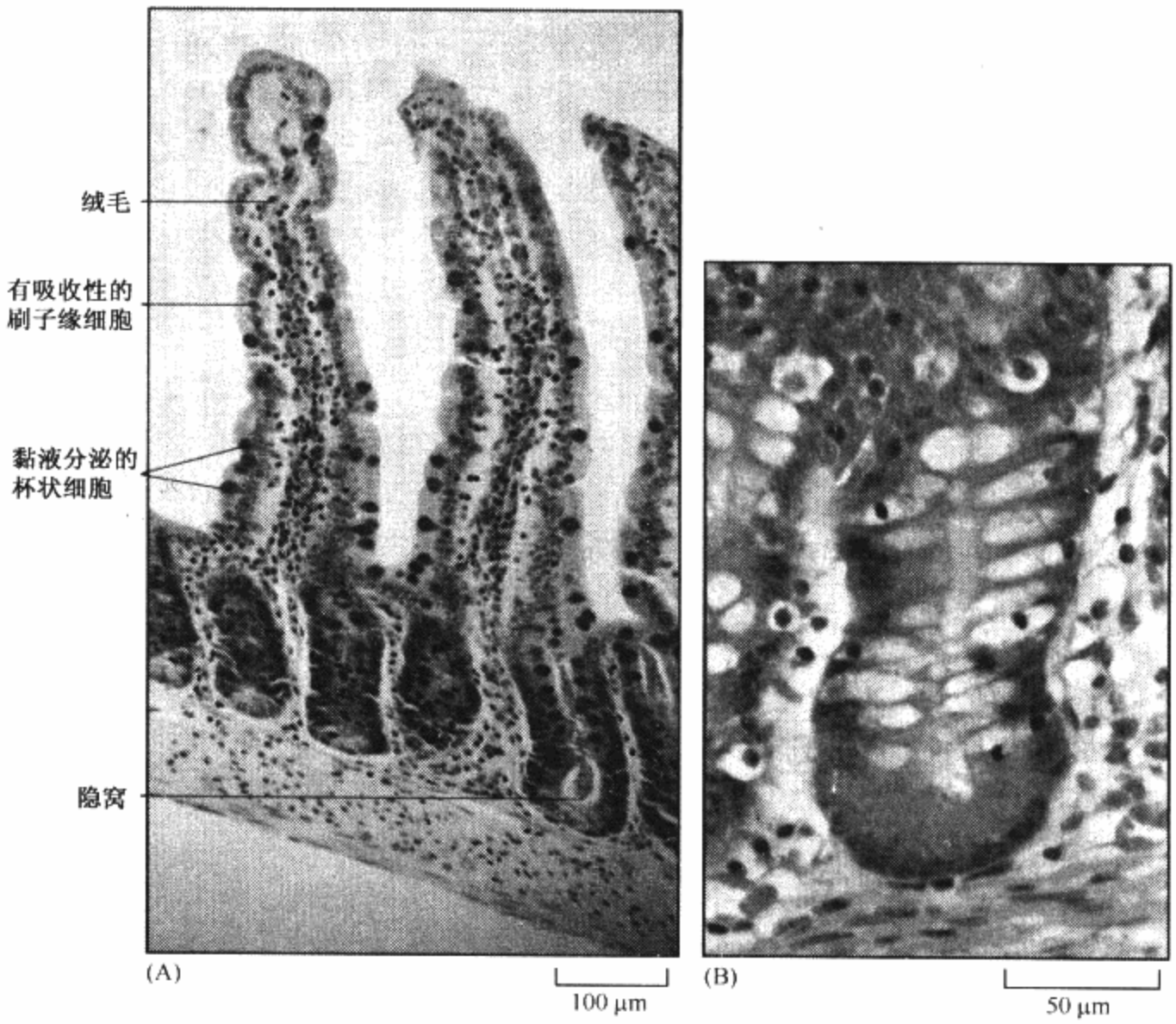


图 25-39　对抗微生物侵入的上皮组织防御

（A）人小肠壁的横切片，显示三根纤毛。分泌黏液的杯状细胞被染成红紫色。保护性黏膜层覆盖纤毛的暴露面。隐窝位于纤毛的基部，上皮细胞在此增殖。（B）隐窝的放大图，所用染色方法是使帕内特细胞中的颗粒染成猩红色。这些细胞分泌大量抗微生物肽和防御素进入肠腔［（B），经 H. G. Burkitt 许可，摘自 P. R. Wheater, Functional Histology, 2nd edn. London: Churchill-Livingstone, 1987.］

的传统药物组合起作用。

人的细胞识别病原体的保守特征

微生物确实偶尔会突破上皮屏障。接着，天然免疫系统和获得性免疫系统识别并破坏这些微生物，而不伤害宿主。因此，免疫系统必须能辨别自己和非己。我们在第 24 章讨论了获得性免疫系统怎样实现这一功能。天然免疫系统依赖于识别特殊类型的分子，这些分子常见于许多病原体，但在宿主中缺乏。这些病原体相关分子（称为病原体相关免疫兴奋剂）刺激两种类型的天然免疫应答——炎症应答（讨论见下文）和细胞（如中性粒细胞和巨噬细胞）的吞噬作用。这两种应答都能快速产生，即使宿主以前从未暴露于某种特殊抗原。

病原体相关免疫兴奋剂有多种类型。原核翻译起始不同于原核翻译起始，由于通常用作起始氨基酸的是甲酰基化甲硫氨酸而不是常规的甲硫氨酸。因此，任何在 N 端含有甲酰甲硫氨酸的肽必定是源自细菌。含甲酰甲硫氨酸的肽正是充当了中性粒细胞的化学引诱物，使得中性粒细胞快速迁移到这类肽的发源地，并吞噬正在产生它们的那些细菌（图 16-96）。

另外，许多微生物的外表面由在它们的多细胞宿主中不存在的分子组成的，这些分子也

起免疫兴奋剂的作用。它们包括细菌的肽聚糖细胞壁和鞭毛，还有革兰氏阴性菌上的脂多糖（LPS）（图 25-40）和革兰氏阳性菌上的磷壁酸［图 25-4（D）］。它们也包括真菌细胞壁上的分子，如酵母多糖、葡聚糖和壳多糖。许多寄生虫也含有起免疫兴奋剂作用的独特膜成分，包括疟原虫中的糖基磷脂酰肌醇。

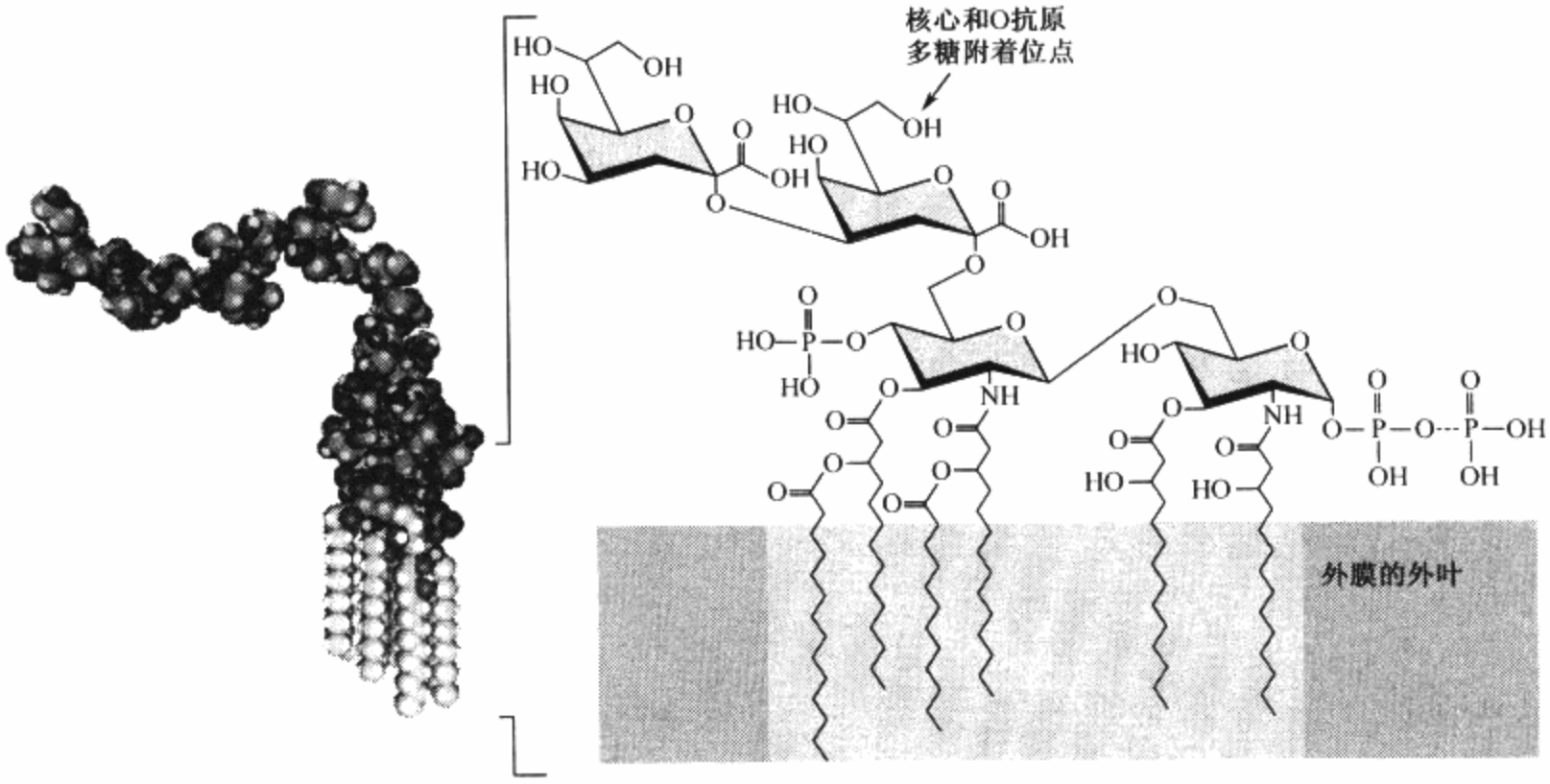


图 25-40　脂多糖（LPS）的结构

左边是 LPS 分子的三维结构，脂肪酸显示为黄色，糖显示为蓝色。右边显示 LPS 的基本分子结构。疏水的膜固定点由两个相连的葡萄糖胺组成，有 3 个磷酸盐和 6 个脂肪酸尾附着在糖基上。这种基本结构再加上一条长而高度分支的糖链后就变得更加复杂了。此图显示了允许大肠杆菌生存的最简单类型的 LPS；在其链中仅有两个糖分子，两个都是 3-脱氧-D-甘露糖-辛酮糖酸。野生型革兰氏阴性菌将一个由 8～12 个糖连接而成的核心糖和一条长的 O 抗原附着在箭头所标记的位置，O 抗原由一个重复多次（一直到 40 次）的寡糖单位组成。组成核心糖和 O 抗原的糖随细菌种的不同而异，甚至相同种的不同菌株，其糖的种类也不同。所有形式的 LPS 都有很强的免疫原性

细菌 DNA 的短序列也能起免疫兴奋剂的作用。那就是“CpG 基序”，由未甲基化的而核苷酸 CpG 组成，两侧分别为两个 5′嘌呤残基和两个 3′嘧啶。脊椎动物 DNA 中的这种短序列至少比细菌 DNA 少 20 倍，它能激活巨噬细胞，刺激炎症应答，并增加 B 细胞的抗体产生。

各种类型的病原体相关免疫兴奋剂常常以重复模式出现在病原体表面。它们被宿主中的几类专用受体识别，这些受体统称为模式识别受体（pattern recognition receptor）。这些受体包括血液中的可溶性受体（补体系统的成分）和宿主细胞表面的膜结合受体（Toll-like 受体家族的成员）。这些细胞表面识别受体有两种功能：①启动对病原体的吞噬作用；②刺激宿主细胞中的基因表达程序，用以刺激天然免疫应答。可溶性受体也有助于吞噬作用，且在某些情况下有助于直接杀死病原体。

补体激活将病原体作为吞噬作用或溶菌作用的靶目标

补体系统由大约 20 种相互作用的可溶性蛋白质组成，这些蛋白质主要由肝脏产生，并在血液和细胞外液中循环。大部分蛋白质是无活性的，直到它们被感染触发。最初，它们是根据它们放大和“补充”抗体作用的能力而被鉴定的，但是，补体的一些成分也是模式识别受体，能被病原体相关的免疫兴奋剂直接激活。

早期补体成分（early complement component）首先被激活。这些成分可分为三组，属于三种不同的补体激活途径——经典途径（classical pathway）、凝集素途径（lectin pathway）和替代途径（alternative pathway）。这三种途径的早期成分在局部发挥作用，激活 C3，这是补体的枢纽成分（图 25-41）。具有 C3 缺陷性的个体易于遭受细菌的反复感染。早期成分和 C3 都是酶原，通过溶蛋白性裂解被有序地激活。该系列中每个酶原的裂解都会激活下一个成分，产生一个丝氨酸蛋白酶，该酶又裂解该系列中的下一个酶原等。由于每个激活的酶裂解这一反应链中下一个酶原的许多分子，因此早期成分的激活组成一个放大的蛋白质水解级联反应。

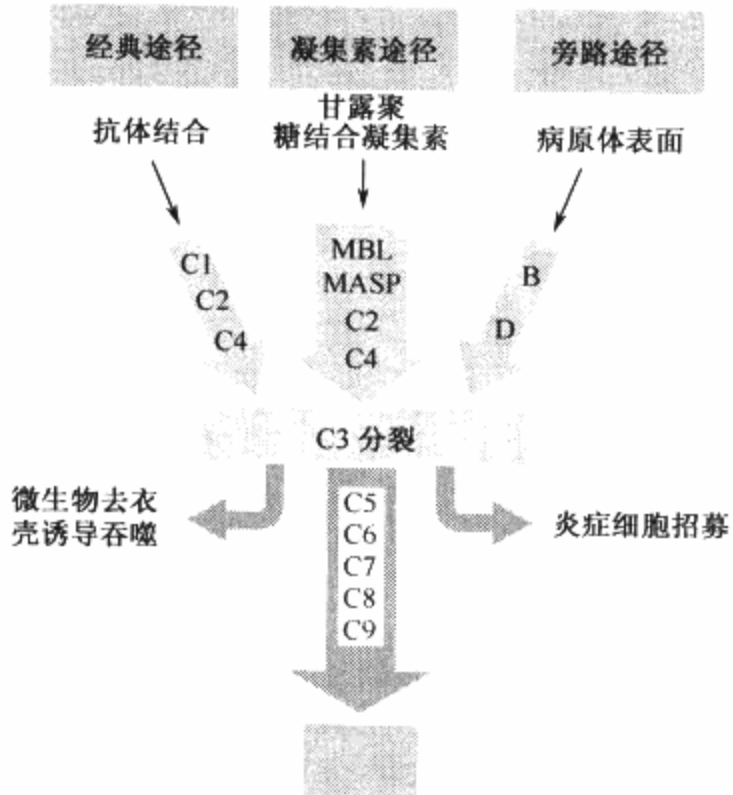


图 25-41　通过经典途径、凝集素途径和旁路途径激活补体的主要阶段

在所有三种途径中，补体激活反应通常发生于侵入的微生物表面，如细菌。C1～C9 以及 B 因子和 D 因子都是补体系统的反应成分；其他各种成分调节这一系统。早期成分显示在灰色箭头内，而后期成分则显示在褐色箭头内

在这些裂解步骤中，许多步骤都释放一个生物活性小肽和一个膜结合大片段。大片段与细胞膜（通常是一个病原体的表面）的结合有助于按顺序执行下一个反应。通过这种方式，补体激活主要限于特殊细胞表面（补体激活开始于此处）。C3 的较大片段称为 C3b，与病原体的表面共价结合。一旦处于合适的位置，它不但作为一个蛋白酶催化补体级联反应中的下一步，而且还被吞噬细胞表面的特殊受体识别，增强这些细胞吞噬病原体的能力。C3 的较小片段（称为 C3a）和 C4、C5 的片段一样（图 25-41），作为可扩散信号独立起作用，通过招募吞噬细胞和淋巴细胞至感染部位增强炎症应答。

经典途径被结合于微生物表面的 IgG 或 IgM 抗体分子激活（讨论见第 24 章）。**甘露糖结合凝集素（mannan-binding lectin**；抑制第二条补体激活途径的蛋白质）是一个血清蛋白，它围绕中间一根类胶原茎结构形成几个由 6 个碳水化合物结合头组成的簇。这一装置特异结合细菌细胞壁中的甘露糖和岩藻糖残基，这些糖残基有适当的间距和取向，与 6 个塘水化合物结合位点完美匹配，从而为模式识别受体提供了一个很好的例子。在经典途径和凝集素途径中的这些最初结合事件招募和激活早期补体成分。在替代途径中，C3 被低水平自发激活，产生的 C3b 与宿主细胞和病原体共价结合。宿主细胞产生一系列蛋白质，阻止补体反应在其细

胞表面继续进行。因为病原体缺乏这些蛋白质，所以它们挑选出来加以破坏。经典途径或凝集素途径的激活还通过一个正反馈环激活旁路途径，从而放大它们的效应。

膜固定化 C3b（这三种途径中的任何一种都可产生）引发另一条级联反应，导致后面成分的装配，形成膜攻击复合体（membrane attack complex）（图 25-42）。这些复合体在病原体膜上靠近 C3 激活位点进行装配，在负染电子显微镜照片中呈现特征性的形态，它们形成一个跨膜的水样孔（图 25-43）。由于这一原因，也因为它们在其附近扰乱双分子层的结构，所以它们使膜渗漏，并且在某些情况下还能引起微生物细胞溶解，很像先前提到的防御素。

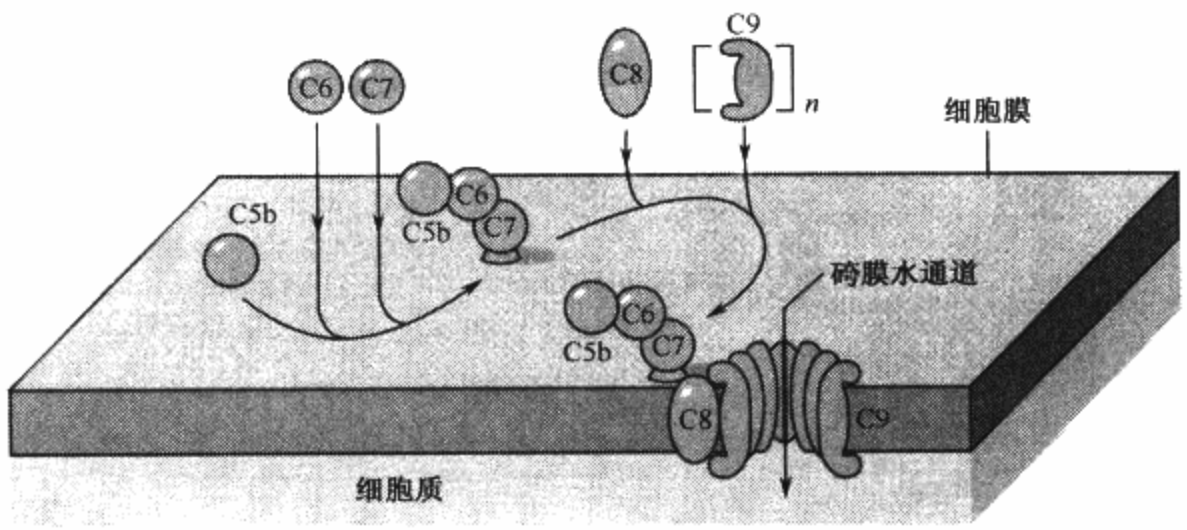


图 25-42　后期补体成分装配形成膜攻击复合体

当三种激活途径中的任何一种产生 C3b 时，它就被固定在膜上，在此使第一个后期成分 C5 裂解产生 C5a（图中未显示）和 C5b。C5b 与 C3b（图中未显示）松散结合，并与 C6 和 C7 快速装配形成 C567，然后通过 C7 与膜紧密结合，如图所示。一分子 C8 加入这一复合体形成 C5678。一分子 C9 与 C5678 结合，导致发生构象变化，暴露疏水结构域，并使 C9 插入靶细胞的脂双层。这就开始了一个链反应，其中改变了的 C9 结合另一分子 C9，在此它能再结合另一分子 C9 等。通过这种方式，一连串的 C9 分子就形成一个大的跨膜通道

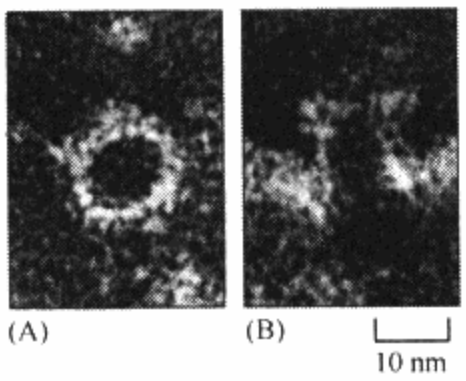


图 25-43　红细胞质膜被补体损伤的负染电子显微照片

（A）中的损伤是正面观，而（B）中的损伤则是将它当作一个明显的跨膜通道从侧面观看。负染的染料填满通道，因而看起来呈现黑色（摘自 R. Dourmashkin, *Immunology* 35：205～212，1978. © Blackwell Scientific）

补体级联反应的自放大特性、炎症特性和破坏特性使得如下特性很重要：被激活的关键成分在它们产生后被迅速灭活以确保攻击不会扩散到附近的宿主细胞。失活至少有两种途径；第一，一旦它们被溶蛋白性裂解激活，血液或宿主细胞表面的特殊抑制蛋白通过与它们结合或使它们裂解而终止级联反应。第二，在级联反应许多被激活的成分是不稳定的；除非它们与级联反应中的一个合适成分或附近的膜结合，否则它们很快就会失活。

Toll-like 蛋白是模式识别受体的一个古老家族

许多哺乳动物的细胞表面模式识别受体负责引发对病原体做出应答的宿主细胞基因表达，这些受体是 **Toll-like 受体（TLR）家族**的成员。果蝇的 Toll 是一个跨膜蛋白质，有一个由一

系列富含亮氨酸的重复组成的细胞外大结构域（图 15-76）。它最初被鉴定为与发育中的果蝇胚胎的背腹极性的建立有关的一个蛋白质（讨论见第 21 章）。不过，它也设计成年果蝇对真菌感染的抗性。当果蝇暴露于致病性真菌时，胞内信号转导途径激活的 Toll 下游成分导致 NF-κB 蛋白转位进入核内，激活各种基因的转录，包括编码抗真菌防御素的基因。果蝇的另一个 Toll 家族成员通过暴露于致病菌而被激活，导致产生抗真菌防御素。

人至少有 10 个 TLR，其中几个在病原体相关的免疫兴奋剂的天然免疫识别中起重要作用，包括脂多糖、肽聚糖、酵母多糖、细菌鞭毛和 CpG DNA。和果蝇的 Toll 家族成员一样，不同的人 TLR 为响应不同的配基而被激活，尽管它们中有许多都利用 NF-κB 信号转导途径（图 25-44）。在哺乳动物中，TLR 的活化会促进那些启动炎症应答（讨论见下文）和帮助诱

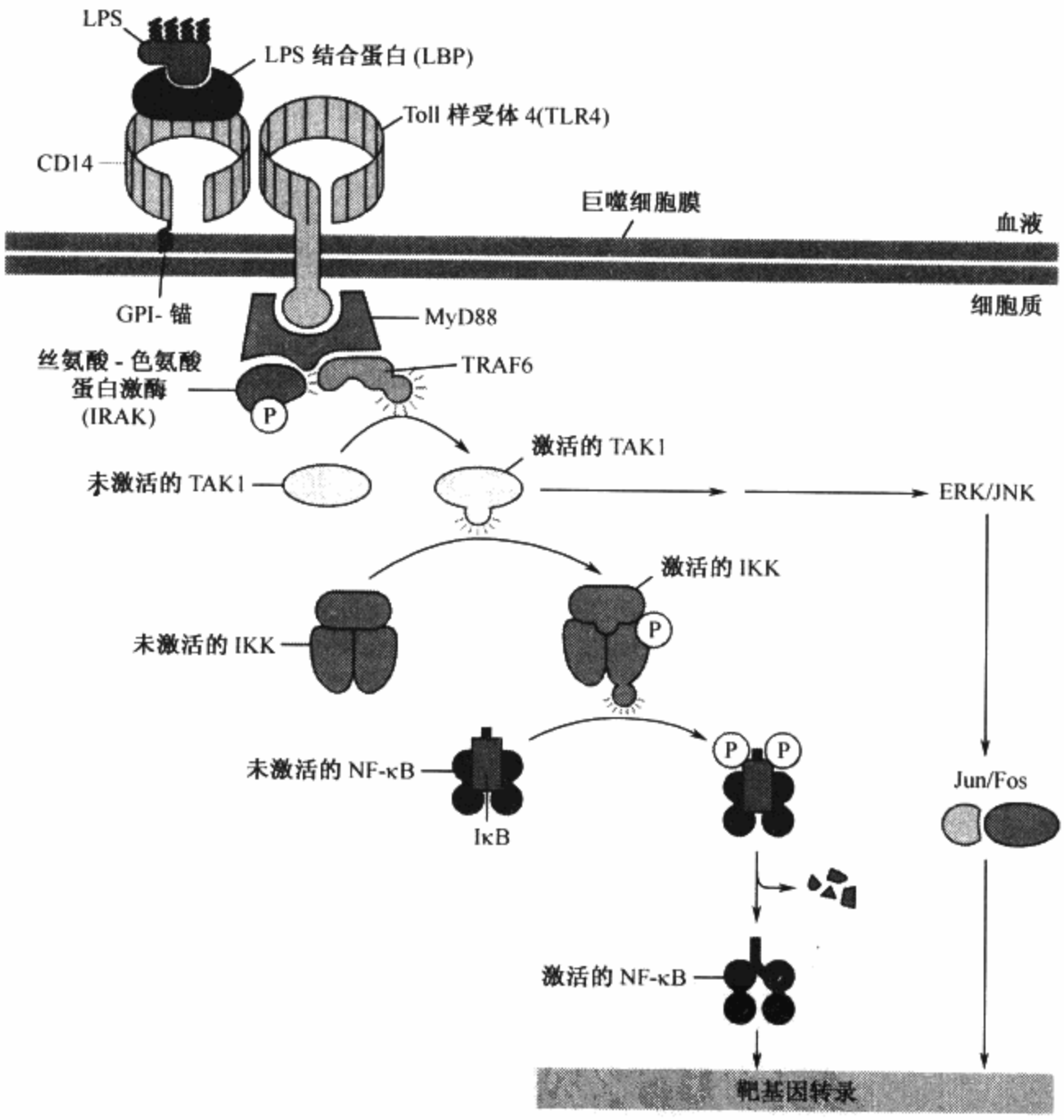


图 25-44　脂质体（LPS）激活巨噬细胞

LPS 与血液中的 LPS 结合蛋白（LBP）结合，形成的复合体与巨噬细胞表面的 GPI 锚定受体 CD14 结合。然后，这个三元络合物激活 Toll-like 受体 4（TLR4）。被激活的 TLR4 招募衔接蛋白 MyD88，该蛋白质与丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 IRAK 相互作用。招募 IRAK 至活化的受体复合物导致它的自磷酸化以及与另一个衔接蛋白 TRAF6 的结合。接着，TRAF6 结合并激活 MAP 激酶激酶激酶 TAK1。通过几个中间步骤，TAK1 的激活导致 IκB 激酶（IKK）的磷酸化和激活。IKK 磷酸化 NF-κB 抑制剂 IκB，从而诱导其降解并释放 NF-κB。经由另外的 MAP 激酶（ERK 和 JNK），TAK1 也激活 AP-1 转录家族成员 Jun 和 Fos，二者和 NF-κB 一起激活刺激免疫应答和炎症应答的基因的转录（图 15-74）

导获得性免疫应答的分子的表达。TLR 在巨噬细胞和中性粒细胞表面以及肺和肠道内表面的上皮细胞表面含量丰富。它们起警报系统的作用，向天然免疫系统和获得性免疫系统发出感染即将来临的警报。

与 Toll 和 TRL 有关的分子显然与所有多细胞有机体内的天然免疫有关。在植物中，富含亮氨酸重复和与 TLR 胞质溶胶部分同源的结构域的蛋白质是抗真菌、细菌和病毒病原体抗性所必需的（图 25-45）。因此，天然免疫系统至少有两个成分（防御素和 TLR）似乎在进化上非常古老，很可能在十多亿年前动物和植物分开之前。它们在进化上的保守性表明，这些天然应答在抗微生物病原体的防御中具有重要意义。

图 25-45　植物中的微生物病

这些土豆叶感染了黄枝孢霉（*Cladosporium fulvum*）。对此类感染的抗性依赖于一种宿主受体识别某种真菌蛋白，这种受体在结构上与 TLR 有关（经 Jonathan Jones 许可）

吞噬细胞寻找、吞噬和消灭病原体

在所有动物中，无论是脊椎动物还是非脊椎动物，在识别微生物侵入者之后，紧跟着就是吞噬细胞吞噬它们。然而，植物缺乏这种天然免疫应答。在脊椎动物中，巨噬细胞存在于全身组织中，在可能发生感染的部位尤其丰富，包括肺和肠道。它们还在结缔组织、肝和脾中大量存在。这些长寿命细胞巡查身体的各种组织，是首先遭遇到侵入微生物的细胞。脊椎动物中吞噬细胞的第二大家族（中性粒细胞）是短寿命细胞，它们在血液中含量丰富，但不出现于正常的健康组织中。它们被活化的巨噬细胞和分子，如微生物本身释放的含甲酰甲硫氨酸的肽，快速吸引至感染部位。

巨噬细胞和中性粒细胞展示许多种细胞表面受体，使它们能识别和吞噬病原体。这些受体包括模式识别受体，如 TLR。另外，它们还有获得性免疫系统产生的抗体 Fc 片段的细胞表面受体，以及补体 C3 成分的受体。与这些受体中的任何一个结合的配基都在病原体接触位点诱导肌动蛋白的聚合，使吞噬细胞的质膜包围病原体，并将它吞噬进一个膜包围的大吞噬体（图 25-46）。

一旦病原体被吞噬，巨噬细胞或中性粒细胞就开放一个令人惊叹的武器库来杀死它。吞噬体被酸化，并与溶酶体融合。这些溶酶体中含有溶菌酶和酸性水解酶，能降解细菌的细胞壁和蛋白质。溶酶体也含有防御素，约占中性粒细胞总蛋白的 15%。另外，吞噬细胞在吞噬

体膜上组装 NADPH 氧化酶复合体（NADPH oxidase complex），催化产生一系列高度性的氧衍生化合物，包括超氧化物（O_2^-），次氯酸盐（HOCl，漂白剂的活性成分）、过氧化氢、羟基、氧化亚氮（NO）。这些毒性化合物的产生伴随着细胞中氧消耗的瞬间升高，称为呼吸暴发（respiratory burst）。通常，巨噬细胞会在这种狂乱杀戮中存活下来，并继续巡查组织中的其他病原体，而中性粒细胞常常会死亡。死的和将要死的中性粒细胞是在急性感染伤口中形成脓的一种主要成分。脓的特征性绿色是由于富含中性粒细胞，它具有含铜酶——髓过氧化酶，这种酶是呼吸暴发的活性成分之一。

如果一个病原体太大而不能被成功地吞噬（如果它是一条大寄生虫如线虫），那么一组巨噬细胞、中性粒细胞或嗜酸性粒细胞（讨论见第 22 章）将会聚集在侵入者周围。它们将通过胞吐作用分泌防御素和其他溶酶体产物，也将释放呼吸暴发的毒性产物（图 25-47）。通常，这种攻击足以破坏病原体。

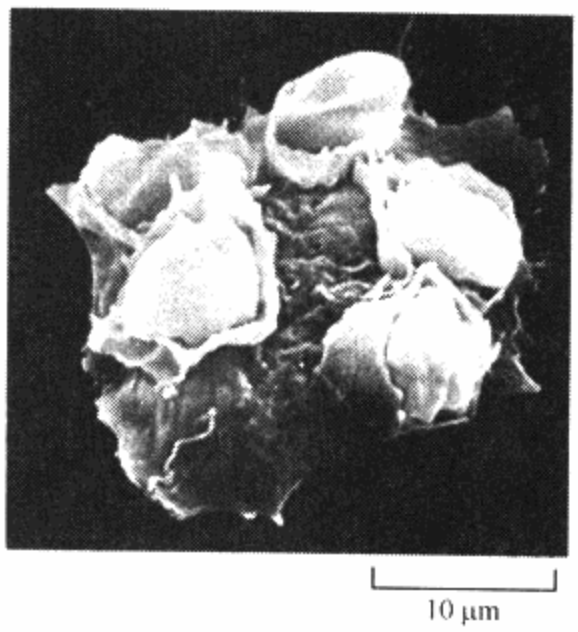


图 25-46　吞噬作用

这张扫描电子显微照片显示一个正在吞噬 5 个红细胞的巨噬细胞，这些红细胞被覆有一种抗表面糖蛋白的抗体（摘自 E. S. Gold et al., *J Exp. Med.* 190：1849～1856，1999. © The Rockefeller University Press）

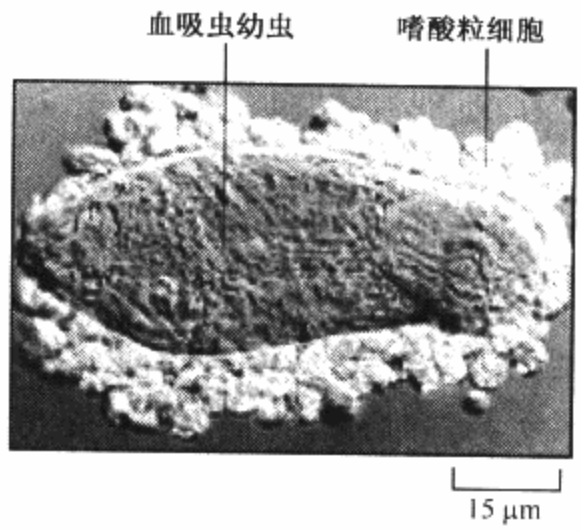


图 25-47　正在攻击血吸虫幼虫的嗜酸性粒细胞

大寄生虫，如蠕虫，不能被吞噬细胞摄入。然而，当蠕虫被覆有抗体或补体时，嗜酸性粒细胞和其他白细胞能识别并攻击它（经 Anthony Butterworth 许可）

许多病原体形成了使它们免遭吞噬细胞吞噬的策略。一些革兰氏阳性菌被覆很厚一层黏性多糖外衣或夹膜（capsule），不被补体或任何一种吞噬细胞受体识别。其他病原体被吞噬，但避免受到破坏；我们前面已经看到，结核分枝杆菌阻止吞噬体的成熟，因而存活下来。一些病原体完全避开吞噬体，其他的则分泌使呼吸暴发产物解毒的酶。对这类狡猾的病原体，这第一道防线不足以清除感染，还需要获得性免疫系统来加以控制。

活化的巨噬细胞招募其他吞噬细胞至感染位点

当一个病原体侵入某组织时，它几乎总是诱导一种**炎症应答**。这种应答的特征是感染部位的疼痛、发红、发热和肿胀，所有这些都是通过局部血管的改变而引起。这些血管扩张，可渗透体液和蛋白质，导致局部肿胀和在防御中起辅助作用的血液蛋白的积累，包括补体级联反应的成分。同时，局部血管内表面的内皮细胞受到刺激，表达细胞黏着蛋白（讨论见第 19 章），便于白细胞的附着和外渗，包括中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞（巨噬细胞的前

体）。

炎症应答由许多种信号分子介导。TLR 的激活导致脂类信号分子（如前列腺素）和蛋白质类（或肽类）信号分子（如细胞因子）的产生（讨论见第 15 章），所有这些分子都有助于炎症应答。补体片段的蛋白质水解释放也有贡献。活化巨噬细胞产生的一些细胞因子是化学引诱剂（称为趋化因子）。其中一些吸引中性粒细胞，这是首先被大量招募至新感染部位的细胞。稍后，其他因子吸引单核细胞和树突状细胞。树突状细胞从侵入病原体获取抗原，并将它们运送至附近的淋巴结，它们在此将抗原呈递给淋巴细胞，以集结获得性免疫系统的力量（讨论见第 24 章）。其他细胞因子引起发热——体温升高。总而言之，发热在抗感染的斗争中帮助免疫系统，因为大多数细菌和病毒病原体在低温下生长得更好，而获得性免疫系统在较高温度时更有效。

一些促炎症反应信号分子刺激内皮细胞表达引发局部小血管凝血的蛋白质。通过咬合血管和切断血流，这种应答可能有助于阻止病原体进入血流和将感染扩散至身体的其他部分。

然而，控制局部感染时如此有效的相同炎症应答，当它们在血流的播散感染中发生时（即脓毒症），可能有灾难性的后果。促炎症反应信号分子释放进血液会引起血管的扩张、血浆容量的丧失和大范围凝血，这常常是致命的，这种情况称为败血症性休克（septic shock）。不适当的或过分强烈的炎症应答也与一些慢性病理状况有关，如哮喘（图 25-48）。

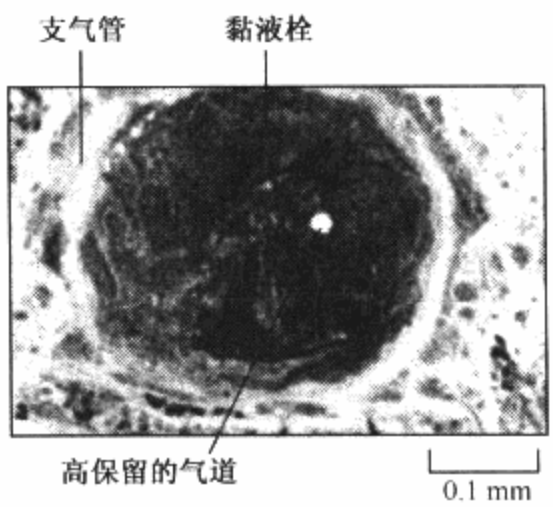


图 25-48　慢性哮喘中的气道炎症限制呼吸

死于哮喘的患者支气管切面的光学显微照片。气道完全被黏液栓遮蔽。这种黏液栓是一种包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞的稠密炎症性浸润（经 Thomas Krausz 许可）

正如吞噬作用的情况一样，一些病原体形成了一些机制以阻止炎症应答，或者在某些情况下利用它来传播感染。例如，许多病毒编码有效的细胞因子拮抗物，阻断炎症应答的方方面面。其中一些仅仅是细胞因子受体的改良形式，由病毒基因组从宿主获得的基因编码。它们高亲和力地结合细胞因子，并阻断它们的活性。一些细菌，如沙门氏菌，在肠道的最初感染部位诱导炎症应答，从而招募它们当时侵入的巨噬细胞和中性粒细胞。通过这种途径，细菌传播到体内其他组织。

病毒感染细胞采取有力措施阻止病毒复制

细菌和寄生虫表面的病原体相关免疫兴奋剂在诱导天然免疫应答中非常重要，但是通常并不存在于病毒表面。病毒蛋白由宿主细胞核糖体合成，有囊膜病毒的膜由宿主细胞的脂质组成。与病毒有关的唯一异常的分子是双链 RNA（dsRNA），它是许多病毒生活史中的中间体。宿主细胞能探测到 dsRNA 的存在，并启动一个有力的应答程序来消灭它。

这个程序有两个步骤。首先，细胞将 dsRNA 降解成小片段（长 21～25 个核苷酸对）。这些片段与宿主细胞内的单链 RNA（ssRNA）结合，这些 ssRNA 与 dsRNA 片段其中一条链的序列相同。这种结合导致 ssRNA 的破坏。这种 dsRNA 指导的 ssRNA 破坏是 RNA 干涉（RNA interference，RNAi）技术的基础，研究人员可将其用于阻断特殊的基因表达（讨论见第 8 章）。第二，dsRNA 诱导宿主细胞产生并分泌两种细胞因子——干扰素 α（IFN-α）和干扰素 β（IFN-β），它们以自分泌形式作用于感染细胞和以旁分泌形式作用于未感染的邻近细胞。干扰素与其细胞表面受体的结合通过 Jak/STAT 胞内信号转导途径刺激特殊基因转录

(图 15-63)，导致激活一个潜在的核糖核酸酶，非特异性地降解 ssRNA。它也导致激活一个使蛋白质合成起始因子 eIF-2 磷酸化并失活的蛋白激酶，从而关闭宿主细胞中的大部分蛋白质合成。显然，通过破坏它所含的 RNA 以及暂时停止大部分蛋白质合成，细胞抑制病毒复制而不影响自身。然而，在某些情况下，一个感染病毒的细胞通过白细胞迫害自身，以阻止病毒复制。

天然杀伤细胞诱导病毒感染细胞自杀

干扰素帮助脊椎动物防御病毒的另一种方式是通过刺激天然和获得性细胞免疫应答。在第 24 章，我们讨论了干扰素怎样提高 MHC Ⅰ类蛋白的表达，该蛋白质将病毒抗原呈递给细胞毒 T 细胞（图 24-48）。在此，我们考虑干扰素怎样提高**天然杀伤细胞（natural killer cell）**或 NK 细胞的活性，这些细胞是天然免疫系统的一部分。与细胞毒 T 细胞相同的是，NK 细胞破坏病毒感染细胞是通过诱导感染细胞的细胞凋亡。然而，与细胞毒 T 细胞不同的是，NK 细胞不表达抗原特异受体。那么，它们怎样辨别病毒感染的细胞和未感染的细胞呢？

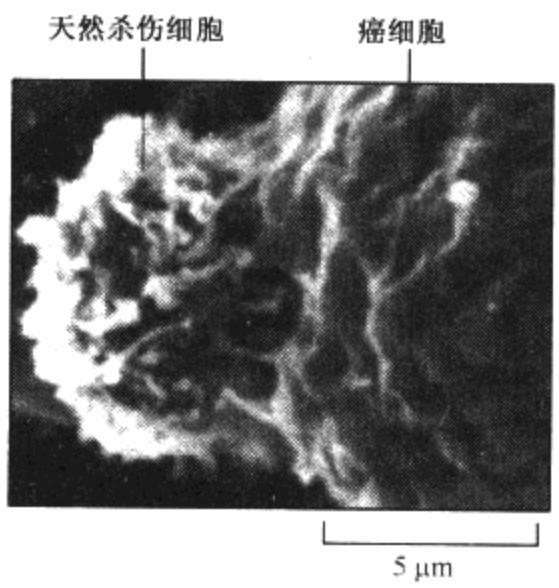


图 25-49　一个正在攻击癌细胞的天然杀伤（NK）细胞

NK 细胞是左边较小的细胞。这张扫描电子显微照片摄于 NK 细胞附着后不久，但在它诱导癌细胞自杀之前［Courtesy of J. C. Hiserodt, in Mechanisms of Cytotoxicity by Natural Killer Cells (R. B. Herberman and D. Callewaert, eds.). New York: Academic Press, 1995.］

NK 细胞监测 MHC Ⅰ类蛋白的水平，该蛋白质在大多数脊椎动物细胞表面表达。这些蛋白质的大量存在抑制 NK 细胞的杀伤活性，结果 NK 细胞选择性杀伤低水平表达的细胞，包括病毒感染的细胞和一些癌细胞（图 25-49）。为了避免被细胞毒 T 淋巴细胞探测到，许多病毒形成了抑制它们所感染的细胞表面 MHC Ⅰ类分子表达的机制。例如，腺病毒和 HIV 编码阻断 MHC Ⅰ类基因转录的蛋白质。单纯疱疹病毒和细胞巨化病毒阻断内质网膜中的肽转位分子（peptide translocator），这种转位分子将蛋白酶体来源的肽从胞质溶胶运输到内质网腔；新产生的 MHC Ⅰ类蛋白在内质网膜上的组装以及从高尔基体运输到细胞表面都需要这种肽（图 24-58）。细胞巨化病毒引起 MHC Ⅰ类蛋白从内质网膜逆转位进入胞质溶胶，它们在此被蛋白酶体快速降解。由其他病毒编码的蛋白质阻止已经组装的 MHC Ⅰ类蛋白质从内质网转运至高尔基体，或者从高尔基体转运至质膜。然而，通过以这种方式避免被细胞毒 T 细胞识别，病毒会遭受到 NK 细胞的猛烈攻击。IFN-α 和 IFN-β 的局部合成会激活 NK 细胞的杀伤活性，也会增加未感染细胞中 MHC Ⅰ类蛋白的表达。当细胞感染阻断 MHC Ⅰ类基因表达的病毒后，它因此而被暴露，并成为活化 NK 细胞的受害者。因此，对病毒而言，同时躲避天然免疫系统和获得性免疫系统是困难的或是不可能的。

NK 细胞和细胞毒 T 淋巴细胞杀伤感染的靶细胞都是通过在病毒有机会复制之前诱导它们步入细胞凋亡。此时并不令人奇怪的是，许多病毒已经获得了抑制细胞凋亡的机制，尤其是在感染的早期。正如在第 17 章所讨论的，细胞凋亡依赖于胞内蛋白水解级联反应，细胞毒 T 细胞可通过细胞表面死亡受体的激活或通过注射蛋白水解酶进入靶细胞触发这种级联反应（图 24-46）。病毒蛋白能干涉这些途径中的几乎每一个步骤。然而，在某些情况下，病毒编码的蛋白质在其复制周期晚期起作用，以便在宿主细胞内诱导细胞凋亡，从而释放能感染邻近

细胞的子代病毒。

病原体和宿主之间的斗争显然得到平衡。目前，人类似乎正获得些微优势，因为我们利用公共卫生措施、疫苗和药物来帮助我们的天然免疫系统和获得性免疫系统。然而，传染病和寄生虫病仍是全世界的主要死亡原因，而且新的流行病，如艾滋病，仍在出现。病原体的快速进化及其几乎无限种侵入人体和避免免疫应答的方式将阻止我们彻底赢得这场斗争的胜利。

小结

天然免疫应答是对抗侵入病原体的第一道防线。它们也是启动获得性免疫应答所必需的。天然免疫应答依赖于机体识别未感染宿主中并不存在的病原体保守特征的能力。这些保守特征包括微生物表面许多类型的分子以及一些病毒的双链 RNA。在这些病原体特异的分子中，许多都被 Toll-like 受体蛋白所识别，这些受体蛋白在植物、无脊椎动物和脊椎动物中都有发现。在脊椎动物中，微生物表面分子还激活补体（一组血液蛋白质，它们共同作用以破坏微生物的膜结构）使得微生物成为被巨噬细胞和中性粒细胞吞噬的对象，并产生炎症应答。吞噬细胞利用降解酶、抗微生物肽和活性氧簇的组合来杀伤侵入的微生物。另外，它们释放触发炎症应答的信号分子，并开始聚集获得性免疫系统的力量。感染病毒的细胞产生干扰素，从而诱导一系列的细胞应答，抑制病毒复制以及激活天然杀伤细胞和细胞毒 T 淋巴细胞的杀伤活性。

参考文献

一般文献

Cossart P, Boquet P, Normark S & Rappuoli R (eds) (2000) Cellular Microbiology. Washington: ASM Press.

Flint SJ, Enquist LW, Krug RM et al. (2000) Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control. Washington: ASM Press.

Janeway CA, Travers P, Walport M & Shlomchik M (2001) Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 5th edn. New York: Garland Science.

Salyers A & Whitt DD (1994) Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach. Washington: ASM Press.

Schaechter M, Engleberg NC, Isenstein BI & Medoff G (eds) (1988) Mechanisms of Microbial Disease. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins.

Introduction to Pathogens

Baltimore D (1971) Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.* 35, 235–241.

Crick FHC & Watson JD (1956) Structure of small viruses. *Nature* 177, 374–475.

Galan JE & Collmer A (1999) Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science* 284, 1322–1328.

Hacker J & Kaper JB (2000) Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu. Rev. Microbiol.* 54, 641–679.

Heidelberg JF, Eisen JA, Nelson WC et al. (2000) DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. *Nature* 406, 477–483.

Lang-Unnasch N & Murphy AD (1988) Metabolic changes of the malaria parasite during the transition from the human to the mosquito host. *Annu. Rev. Microbiol.* 52, 561–590.

Lorber B (1996) Are all diseases infectious? *Ann. Intern. Med.* 125, 844–51.

Madhani HD & Fink GR (1998) The control of filamentous differentiation and virulence in fungi. *Trends Cell Biol.* 1998, 348–353.

Poulin R & Morand S (2000) The diversity of parasites. *Q. Rev. Biol.* 75, 277–293.

Prusiner SB (1996) Molecular biology and genetics of prion diseases. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 61, 473–493.

Rixon FJ (1990) Structure and assembly of herpesviruses. *Semin. Virol.* 1, 477–487.

Cell Biology of Infection

Baranowski E, Ruiz-Jarabo CM & Domingo E (2001) Evolution of cell recognition by viruses. *Science* 292, 1102–1105.

Berdoy M, Webster JP & Macdonald DW (2000) Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 267, 1591–1594.

Berger EA, Murphy PM & Farber JM (1999) Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu. Rev. Immunol.* 17, 657–700.

Bliska JB, Galan JE & Falkow S (1993) Signal transduction in the mammalian cell during bacterial attachment and entry. *Cell* 73, 903–920.

Deitsch KW, Moxon ER & Wellems TE (1997) Shared themes of antigenic variation and virulence in bacterial, protozoal, and fungal infections. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 281–293.

Dramsi S & Cossart P (1988) Intracellular pathogens and the actin cytoskeleton. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 14, 137–166.

Finlay BB & Cossart P (1997) Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. *Science* 276, 718–725.

Galan JE (1996) Molecular genetic bases of Salmonella entry into host cells. *Mol. Microbiol.* 20, 263–271.

Garoff H, Hewson R & Opstelten DJ (1998) Virus maturation by budding. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 1171–1190.

Hacker J & Carniel E (2001) Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity. A Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO Rep.* 2, 376–381.

Hackstadt T (2000) Redirection of host vesicle trafficking pathways by intracellular parasites. *Traffic* 1, 93–99.

Jones NC (1990) Transformation by the human adenoviruses. *Semin. Can-*

cer Biol. 1, 425–435.

Kaariainen L & Ranki M (1984) Inhibition of cell functions by RNA-virus infections. *Annu. Rev. Microbiol.* 38, 91–109.

Kenny B, DeVinney R, Stein M et al. (1997) Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. *Cell* 91, 511–520.

Koch AL (1981) Evolution of antibiotic resistance gene function. *Microbiol. Rev.* 45, 355–378.

Lyles DS (2000) Cytopathogenesis and inhibition of host gene expression by RNA viruses. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 709–724.

Neu HC (1992) The crisis in antibiotic resistance. *Science* 257, 1064–1073.

Overbaugh J & Bangham CR (2001) Selection forces and constraints on retroviral sequence variation. *Science* 292, 1106–1109.

Rosenshine I & Finlay BB (1993) Exploitation of host signal transduction pathways and cytoskeletal functions by invasive bacteria. *Bioessays* 15, 17–24.

Sibley LD & Andrews NW (2000) Cell invasion by un-palatable parasites. *Traffic* 1, 100–106.

Skehel JJ & Wiley DC (2000) Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu. Rev. Biochem.* 69, 531–569.

Sodeik B (2000) Mechanisms of viral transport in the cytoplasm. *Trends Microbiol.* 8, 465–472.

Stephens EB & Compans RW (1988) Assembly of animal viruses at cellular membranes. *Annu. Rev. Microbiol.* 42, 489–516.

Tilney LG & Portnoy DA (1989) Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. *J. Cell Biol.* 109, 1597–1608.

Innate Immunity

Aderem A & Ulevitch RJ (2000) Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 406, 782–787.

Aderem A & Underhill DM (1999) Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu. Rev. Immunol.* 17, 593–623.

Ganz T & Lehrer RI (1998) Antimicrobial peptides of vertebrates. *Curr. Opin. Immunol.* 10, 41–44.

Guidotti LG & Chisari FV (2001) Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immune response. *Annu. Rev. Immunol.* 19, 65–91.

Hampton MB, Kettle AJ & Winterbourn CC (1998) Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 92, 3007–3017.

Hancock RE & Scott MG (2000) The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 8856–8861.

Imler JL & Hoffmann JA (2000) Toll and Toll-like proteins: an ancient family of receptors signaling infection. *Rev. Immunogenet.* 2, 294–304.

Kimbrell DA & Beutler B (2001) The evolution and genetics of innate immunity. *Nat. Rev. Genet.* 2, 256–267.

Medzhitov R & Janeway C Jr (2000) Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol. Rev.* 173, 89–97.

Medzhitov R & Janeway C Jr (2000) Innate immunity. *N. Engl. J. Med.* 343, 338–344.

Muller-Eberhard HJ (1988) Molecular organization and function of the complement system. *Annu. Rev. Biochem.* 57, 321–347.

Murphy PM (2001) Viral exploitation and subversion of the immune system through chemokine mimicry. *Nat. Immunol.* 2, 116–22.

Ploegh HL (1998) Viral strategies of immune evasion. *Science* 280, 248–253.

Super M & Ezekowitz RA (1992) The role of mannose-binding proteins in host defense. *Infect. Agents Dis.* 1, 194–199.

Timonen T & Helander TS (1997) Natural killer cell-target cell interactions. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 667–673.

Tomlinson S (1993) Complement defense mechanisms. *Curr. Opin. Immunol.* 5, 83–89.

Watanabe S & Arai Ki (1996) Roles of the JAK-STAT system in signal transduction via cytokine receptors. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 6, 587–596.

Yang RB, Mark MR, Gray A et al. (1998) Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature* 395, 284–288.